

KESAN KEPEKATAN AIR KELAPA DAN MEDIA ASAS YANG BERBEZA KE
ATAS PROLIFERASI PROTOKOM *PHALAENOPSIS GIGANTEA*

SUHaida BINTI AYUB

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

PROGRAM TEKNOLOGI TUMBUHAN
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

Mac 2006

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

TITEL: KESAN KEPERKATAN AIR KELAPA DAN MEDIA REAS WANG BERBEZAKE ATAS PROLIFERASI PROTOKOM PHAGENOPHIS GIGANTIATARAF: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUDIANNAMA: SUH AIDA BINTI AYUB

(HURUF BESAR)

SESI PENGAJIAN: 2003/2006

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



(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

TANDATANGAN PENULIS)

Tetap: _____

PROF MADYA DR. MARIAM ABD. LATIP

Nama Penyelia

25/4/06

Tarikh: _____

NOTA: *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).



PENGAKUAN

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

20 Mac 2006



SUHaida BINTI AYUB
HS2003-3417




DIPERLAKUKAN OLEH

Tandatangan

1. PENYELIA

Prof. Madya Datin Dr. Mariam Abd. Latip



2. PEMERIKSA 1

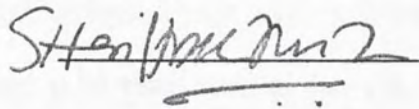
En. Chong Khim Phin

CHONG KHIM PHIN MRES (LONDON), DIC
Lecturer
School of Science & Technology
Universiti Malaysia Sabah



3. DEKAN

**SUPT/ KS Prof. Madya Dr. Shariff
A. K. Omang**



PENGHARGAAN

Syukur ke Hadrat Illahi kerana dengan izinnya saya dapat menyiapkan projek tahun akhir mengikut tarikh yang telah ditetapkan. Sehubungan dengan itu, saya ingin mengucapkan jutaan terima kasih kepada penyelia projek tahun akhir saya iaitu Prof. Madya Dr. Mariam Abd. Latip kerana telah banyak memberikan saya nasihat, bimbingan dan cadangan sepanjang menyiapkan projek tahun akhir ini.

Selain itu, saya juga ingin mengucapkan setinggi-tinggi penghargaan kepada Cik. Rosmah Murdad kerana banyak memberi tunjuk ajar dalam bentuk teknikal semasa penyelidikan ini dijalankan. Setinggi-tinggi penghargaan juga saya ucapkan kepada pembantu makmal Sekolah Sains dan Teknologi iaitu Puan Rokiah dan Cik. Christina yang telah banyak menghulurkan bantuan sepanjang kajian ini dilakukan. Kerjasama dari mereka amat saya hargai.

Tidak saya lupakan juga kepada rakan-rakan seperjuangan yang sentiasa berada di sisi saya semasa saya memerlukan pertolongan. Akhir sekali, saya ingin ucapkan ribuan terima kasih kepada seluruh keluarga saya kerana sentiasa memberikan sokongan moral dan menyuntik semangat saya untuk menjayakan projek tahun akhir ini.



ABSTRAK

Kajian penentuan medium asas dan peratus air kelapa yang sesuai bagi proliferasi protokom orkid *Phalaenopsis gigantea* telah dijalankan . Protokom orkid yang berusia 231 hari selepas percambahan digunakan sebagai eksplan. Dua jenis medium asas digunakan iaitu NDM dan XER yang setiap satunya dibarikan lima rawatan air kelapa iaitu 0%, 2.5%, 5.0%, 7.5% dan 10%. Medium asas tanpa penambahan air kelapa (0%) dijadikan sebagai kawalan. Setiap rawatan ini ditambahkan dengan 2.5g arang (2.5g/L) dan 20g sukrosa (20g/L). Hasil kajian selama tiga bulan menunjukkan bahawa penggunaan media asas dan kepekatan air kelapa yang berbeza tidak mempengaruhi peratus proliferasi protokom. Walau bagaimanapun, rawatan NDM+7.5% air kelapa menunjukkan pertambahan protokom baru yang tinggi dalam masa tiga bulan pengkulturan.



**THE EFFECT OF COCONUT WATER AND TWO DIFFERENT BASAL MEDIA
ON THE PROTOCORM PROLIFERATION OF *Phalaenopsis gigantea***

ABSTRACT

The effects of different basal media and coconut water concentration on protocorm proliferation of *Phalaenopsis gigantea* were studied. Protocorms aged 231 days after germination were used as explants. Five concentrations of coconut water which are 0%, 2.5%, 5.0%, 7.5%, and 10% were added in NDM and XER media. Basal medium without coconut water (0%) was used as control. All culture media were provided with 20g/L of sucrose and 2.5g/L charcoal. After three month, the study shows that different basal media and coconut water concentrations did not influence the protocorm proliferation. However, NDM+7.5% coconut water treatment shows the highest number of new protocorm after three month cultured.



KANDUNGAN

	Muka surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRAC	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI FOTO	xii
SENARAI SIMBOL	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif Kajian	3
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	4
2.1 Orkid <i>Phalaenopsis</i>	4
2.1.1 <i>Phalaenopsis gigantea</i>	5
2.2 Teknik in vitro Bagi Propagasi Orkid	6
2.3 Tisu Kultur Bagi genus <i>Phalaenopsis</i>	9
2.4 Teknik Keratan Nipis	10



2.5	Faktor Mempengaruhi Propagasi Secara in vitro	11
2.5.1	Medium	11
2.5.2	Sukrosa	13
2.5.3	Komplek Additif	14
2.5.4	Arang	16
2.6	Faedah Kultur Tisu Orkid	17
2.7	Kesan Negatif Kultur Tisu Orkid	19
BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH		20
3.1	Bahan	20
3.1.1	Protokom	20
3.1.2	Medium	21
3.2	Kaedah	22
3.2.1	Penyediaan larutan stok	22
3.2.2	Penyediaan Medium Bagi Proliferasi Protokom	23
3.2.3	Pengkulturan Protokom	25
3.2.4	Rekabentuk Eksperimen	26
3.2.5	Cerapan	26
3.2.6	Parameter	27
3.2.7	Analisis Data	28



BAB 4 KEPUTUSAN	29
4.1 Proliferasi protokom	29
4.2 Proliferasi protokom selepas 14 hari pengkulturan	29
4.3 Proliferasi protokom selepas 28 hari pengkulturan	35
4.4 Proliferasi protokom selepas 42 hari pengkulturan	38
4.5 Proliferasi protokom selepas 56 hari pengkulturan	41
4.6 Proliferasi protokom selepas 70 hari pengkulturan	45
4.7 Proliferasi protokom selepas 84 hari pengkulturan	48
4.8 Proliferasi protokom selepas 98 hari pengkulturan	50
4.9 Proliferasi dan pertambahan protokom baru	52
BAB 5 PERBINCANGAN	55
BAB 6 KESIMPULAN	61
RUJUKAN	62
LAMPIRAN A: Unsur kimia dalam medium NDM dan XER	70
LAMPIRAN B : Perbandingan setiap rawatan di antara Protokom berpoliferasi dan yang berpucuk	72



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka surat
3.1 Rawatan air kelapa mengikut media asas yang Digunakan.	25
4.1 Purata peratusan dan ralat piawai bagi protokm berpoliferasi serta bilangan protokom baru per protokom (NDM).	31
4.2 Purata peratusan dan ralat piawai bagi protokm berpoliferasi serta bilangan protokom baru per protokom (XER).	32
4.3 Ujian ANOVA dua hala selepas 42 hari pengkulturan	38
4.4 Ujian ANOVA dua hala selepas 56 hari pengkulturan	42
4.5 Ujian ANOVA dua hala selepas 70 hari pengkulturan	46
4.6 Ujian ANOVA dua hala selepas 84 hari pengkulturan	48
4.7 Ujian ANOVA dua hala selepas 98 hari pengkulturan	50



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka surat
4.1 Regenerasi protokom pada selepas 14 hari pengkulturan.	33
4.2 Regenerasi protokom selepas 28 hari pengkulturan	36
4.3 Protokom mati selepas 28 hari pengkulturan	36
4.4 Regenerasi protokom selepas 42 hari pengkulturan	39
4.5 Protokom mati selepas 42 hari pengkulturan	39
4.6 Regenerasi protokom selepas 56 hari pengkulturan	42
4.7 Protokom mati selepas 56 hari pengkulturan	43
4.8 Regenerasi protokom selepas 70 hari pengkulturan	46
4.9 Protokom mati selepas 70 hari pengkulturan	46
4.10 Regenerasi protokom selepas 84 hari pengkulturan	49
4.11 Protokom mati selepas 84 hari pengkulturan	49
4.12 Regenerasi protokom selepas 98 hari pengkulturan	51
4.13 Protokom mati selepas 98 hari pengkulturan	51
4.14 Proliferasi protokom mengikut bilangan hari	53
4.15 Pertambahan protokom baru mengikut bilangan hari	54



SENARAI FOTO

No. Foto	Muka surat
2.1 Daun <i>Phalaenopsis gigantea</i>	6
2.2 Bunga <i>Phalaenopsis gigantea</i>	6
3.1 Protokom <i>Phalaenopsis gigantea</i>	21
4.1 A-C Perkembangan protokom 14 hari selepas pengkulturan	34
4.2 A-E Perkembangan protokom selepas 28 hari pengkulturan	37
4.3 A-H Proliferasi protokom selepas 42 hari pengkulturan	40
4.4 A-J Proliferasi protokom selepas 56 hari pengkulturan	44
4.5 A-G Perkembangan protokom selepas 70 hari pengkulturan	47



SENARAI SIMBOL DAN SINGKATAN

-	-hingga
mm	-milimeter
°C	- darjah selsius
%	-peratus
X	-kali (kepekatan)
g	-gram
/	-per
+	-tambah
v/v	-isipadu per isipadu
w/v	-jisim per isipadu
g/L	-gram per liter
kPa	-kilopaskal
mW/cm ²	-miliwatt per sentimeter persegi
NDM	-New Dagoshima Medium
XER	-Experimantal Ernst Robert
VW	-Vacin dan Went
KC	-Knudson C
MS	-Murashige dan Skoog
PLB	-Protocorm-like bodies
TCS	-Thin cross section



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Orchidaceae merupakan famili tumbuhan berbunga yang terbesar di dunia. Ini kerana, tedapat di antara 500-800 genus dengan 20,000-30,000 spesies (Shultes & Pease, 1963). Jumlah ini adalah tidak termasuk hybrid yang semakin meningkat setiap masa (Valmayor *et al.*, 1986). Di Malaysia, terdapat sebanyak 220 genus dengan 1,750 spesies orkid.

Di Sabah pula, terdapat lebih 200 spesies orkid yang boleh dijumpai. Ini termasuklah beberapa spesies endemik seperti *Phalaenopsis gigantea*, *P. amabilis* dan *Paphiopedillum* ataupun dikenali dengan nama 'selipar orkid'. *Phalaenopsis gigantea* boleh dijumpai di Merutai dan di kawasan Gunung Harimau yang terletak di utara Borneo. Ia juga boleh ditemui di bahagian barat Banjaran Crocker yang terletak di Sarawak dan Barat Kalimantan (Smith, 1909).

Orkid *Phalaenopsis gigantea* ini adalah sukar untuk dibiakkan secara vegetatif. Ini kerana, ia tidak mengeluarkan tunas sisi dan pertumbuhannya juga adalah lambat.



Orkid ini mengambil masa 8-12 tahun untuk mengembang mekar (Smith, 1909). Jadi, pembiakan secara *in vitro* telah menjadi kaedah utama untuk propagasi orkid ini (Arditti, 1977; Arditti & Ernst, 1993)

Teknik *in vitro* pada *Phalaenopsis gigantea* ini sama ada melalui kaedah kultur tisu ataupun percambahan biji benih. Kaedah kultur tisu pada orkid ini telah diperkenalkan oleh Morel (1960). Beliau telah berjaya menghasilkan sejenis orkid iaitu *Cymbidium* yang bebas daripada virus. Kajian yang telah dilakukan adalah dengan mengkulturkan pucuk yang bersaiz 0.1 mm dalam medium Knudson C yang telah dicampurkan dengan agar.

Kaedah kultur tisu ini kemudiannya telah digunakan secara meluas untuk tujuan perambatan pada orkid. Ini kerana, beberapa genera orkid telah berjaya dibiakkan secara teknik *in vitro* dan telah dikomersilkan. Antara contohnya ialah *Cymbidium* (Morel, 1965; Wimber, 1963; Sagawa *et al.*, 1966), *Dendrobium* (Intuwong & Sagawa 1975; Sagawa & Shoji, 1967; Kim *et al.*, 1970), *Cattleya* (Scully, 1967; Linaermann *et al.*, 1970) dan *Phalaenopsis* (Intuwong & Sagawa, 1974).

Aspek yang terlibat dalam menentukan kejayaan kultur tisu orkid ini termasuklah komposisi dan keadaan medium pengkulturan, sumber karbon, jenis eksplan yang digunakan, kandungan pengatur tumbuhan, kompleks additif dan juga keadaan fizik kultur sesuatu spesies yang dikaji (Abd. Karim & Hairani, 1989). Faktor-faktor yang



mempengaruhi kejayaan kultur tisu ini diaplikasi untuk menggandakan protokom *Phalaenopsis gigantea* yang mana selaras dengan objektif kajian ini seperti di bawah.

1.2 Objektif kajian

Objektif kajian ini ialah untuk mengenal pasti medium asas yang terbaik serta peratus air kelapa yang sesuai bagi proliferasi protokorm *Phalaenopsis gigantea*.



BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Orkid *Phalaenopsis*

Genus *Phalaenopsis* mengandungi 70 spesies. Genus ini tersebar daripada Himalaya ke Thailand, Indo-China, Malaysia, Indonesia, New Guinea dan Australia. Filipina telah muncul sebagai pusat utama kepada genus ini kerana telah berjaya merekodkan sejumlah 42 spesies dengan 36 varieti (Smith, 1909)

Di Malaysia pula, terutamanya di Sabah terdapat beberapa spesies *Phalaenopsis*. Antaranya *P. amabilis*, *P. Aphrodite* dan *P. gigantea*. Bagi kawasan tanah rendah di Sabah pula, antara spesies *Phalaenopsis* yang boleh dijumpai ialah *P. cornu-vervi*, *P. fuscata*, *P. decumbens* dan *P. sumatrana*.

Phalaenopsis dikenali kerana kecantikannya. Jika dilihat, bunganya seperti rama-rama dan daunnya yang besar terhulur keluar. Di Filipina, bunga ini dikenali sebagai 'mariposa' yang bermaksud rama-rama. Di Indonesia pula, *Phalaenopsis* dikenali sebagai



anggerik bulan ataupun orkid bulan. Anggerik bulan ini dinamakan *Phalaenopsis* pada tahun 1885 di Java, Indonesia. Nama ini dipilih setelah mengkaji spesimen *P. amabilis*.

Kesemua *Phalaenopsis* adalah monopodial kerana mempunyai sifat pertumbuhan yang berbeza. Ini kerana, orkid-orkid ini mempunyai satu batang yang akan tumbuh meninggi dan mempunyai daun-daun dan akar-akar yang keluar dari sisinya. Daunnya pula bewarna hijau dan mempunyai banyak air (sukulen).

2.1.1 *Phalaenopsis gigantea*

Nama *gigantea* ini diambil daripada perkataan Latin, *giganteus* yang bermaksud sangat besar. Ini merujuk kepada daun spesies ini yang bentuknya sangat besar. Disebabkan bentuk daunnya yang cukup besar juga, ia turut dikenali sebagai orkid telinga gajah.

Terdapat 5-6 daun pada setiap orkid ini dengan setiap satunya sepanjang 56-91 cm. Bungannya pula sepanjang lima sentimeter secara melintang. Di Sabah, orkid ini adalah bersifat endemik dan dikenali ramai.



Foto 2.1 Daun *Phalaenopsis gigantea*



Foto 2.2 Bunga *Phalaenopsis gigantea*

2.2 Teknik *in vitro* bagi propagasi orkid

Teknik kultur *in vitro* meliputi teknik kultur biji benih dan kultur tisu. Teknik ini melibatkan bahagian tanaman atau biji benih ditanam dalam media pemakanan yang bebas daripada kuman. Perkara ataupun peristiwa yang berkaitan dengan kaedah baru

propagasi orkid ini sentiasa mendahului bidang bioteknologi yang mana seiring dengan peredaran masa.

Kaedah pertama percambahan biji benih orkid (Moore, 1849) merupakan permulaan secara keseluruhan bagi percambahan biji benih 150 tahun yang lalu. Pendekatan yang diambil oleh David Moore pada tahun 1807 hingga 1879 merupakan satu kemajuan dalam bidang biologi dan hortikultur (dipetik daripada Arditti & Ernst, 1993).

Selepas separuh abad penemuan Moore, Noel Bernard (1874-1911) pula telah membuka lembaran baru dengan menemui kaedah percambahan simbiotik biji benih orkid secara *in vitro* (Bernard, 1899-1909) (dipetik daripada Arditti & Ernst, 1993). Kejayaan ini membawa kepada perkembangan propagasi secara *in vitro* (Holdgate 1944; Murashige 1974; Morel 1974; Arditti 1977; Sagawa & Kunisaki 1982; George & Sherrington 1984) (dipetik daripada Pritchard, 1989). Kajian Rao (1977) dan Hughes (1981) pula telah mencatatkan percambahan *in vitro* daripada biji benih serta tisu dan organ kultur dalam persekitaran yang bebas dari kuman.

Kajian yang dilakukan Morel (1960) dengan menggunakan hujung pucuk sebagai eksplan telah membawa kepada banyak kajian seterusnya yang mana menggunakan pendekatan yang sama dengannya. Sebagai contoh, hujung pucuk bagi hybrid *Cymbidium* telah digunakan sebagai eksplan oleh Wimber (1963), Wilfret (1966), Steward & Mapes (1971), Wreckmaister (1971) dan Fannesbech (1972).



Bagi spesies *Cattleya* pula, Morel (1964) telah kulturkan hujung pucuk tetapi mendapati ia sukar untuk dipropagasikan berbanding *Cymbidium*. Walau bagaimanapun, Scully (1967) telah berjaya menggunakan hujung pucuk sebagai sumber eksplan bagi *Cattleya* serta berjaya menghasilkan protokom.

Hujung pucuk bagi *Dendrobium* juga telah berjaya dikulturkan oleh Kim et al (1970) yang mana turut berjaya menghasilkan protokom selepas satu bulan. Hujung pucuk bagi orkid simpodial yang lain juga telah berjaya digunakan sebagai sumber eksplan (Arditti, 1977).

Bagi orkid monopodial, ia juga telah berjaya dikultur dengan menggunakan hujung pucuk. Sebagai contoh, *Rhyncostylis* (Vajrabhaya & Vajrabhaya, 1970), *Vanda* (Kunisaki et al., 1972; Morel, 1972; Teo et al., 1973), *Phalaenopsis* (Intuwong & Sagawa, 1974), *Aranda* (Goh, 1973; Goh, Loh & Rao 1975) dan juga *Aranthera* (Irawati et al., 1977).

Tunas sisi pada batang mempunyai gerak balas yang sama terhadap pengkulturan pada hujung pucuk. Keupayaan penjanaanya menurun bila tunas yang lebih jauh daripada mercu digunakan untuk pengkulturan (Loh et al., 1978). Bahagian lain tumbuhan seperti tunas sisi pada tangkai bunga sering juga digunakan dalam kebanyakan hybrid *Phalaenopsis* (Tse et al., 1971; Intuwong et al., 1972).



Daun juga telah digunakan sebagai eksplan walaupun kadar kejayaan kultur daun tidak tinggi (Arditti, 1977). Pembentukan PLB (protokom-like bodies) daripada tisu daun mula-mula ditemui oleh Wimber (1965) pada tisu daun *Cymbidium*. Daripada kajian Tanaka (1975) mendapati bahawa segmen daun muda daripada anak cambah mudah untuk membentuk PLB jika dibandingkan dengan segmen daun muda pada tumbuhan yang matang pada *Phalaenopsis*.

2.3 Tisu kultur bagi genus *Phalaenopsis*

Rangsangan daripada Rotor (1949), yang mana telah menghasilkan plantlet dengan meletakkan tangkai bunga yang telah dipotong di atas media kultur yang steril telah digunakan sebagai kaedah utama dalam propagasi *Phalaenopsis*.

Selain itu, Intuwong dan Sagawa (1974) telah berjaya mendapatkan PLB serta plantlet melalui kaedah kultur hujung pucuk. Pada tahun yang sama juga, Koch mendapati bahawa penghasilan PLB pada tunas sisi melalui kultur in vitro berlaku apabila menggunakan tangkai bunga yang telah dikerat sebagai eksplan.

Beberapa kajian kultur tisu bagi spesies *Phalaenopsis* juga telah dilakukan. Antaranya ialah pembentukan kallus dan kultur daripada tangkai bunga (Ernst, 1994), tunas pada tangkai bunga (Tse *et al.*, 1971), hujung akar (Tanaka *et al.*, 1976; Lin, 1981) serta daun (Lin, 1980; Ishii *et al.*, 1998).



Kaedah propagasi secara *in vitro* bagi spesies *Phalaenopsis* juga telah dimajukan oleh Sagawa (1961), Scully (1996), Koch (1974), Reisinger *et al.*, (1976), Zimmer & Pieper (1977) dan Tanaka & Sakanishi (1978). Sebagai contoh, ruas pada tangkai bunga *Phalaenopsis* boleh menghasilkan batang bunga yang baru apabila diletakkan dalam media kultur (Intuwong *et al.*, 1972)

Penghasilan orkid *Phalaenopsis* telah meningkat sejak kebelakangan ini. Ini adalah kerana berlakunya peningkatan teknik bagi menghasilkan spesies ini dan juga permintaan daripada pengguna (Griesbach, 1995; Wang & Lee, 1994). Dijangka lebih daripada enam juta spesies ini akan dijual setiap tahun bagi pasaran Amerika Syarikat sahaja. Bagi Eropah dan Jepun pula, beberapa juta spesies ini dijual setiap tahun (Griesbach, 1995; Sinoda, 1994). Untuk itu, teknik kultur tisu bagi *Phalaenopsis* adalah penting dalam memperbanyakkan pengeluaran spesies ini.

2.4 Teknik keratan nipis

Teknik keratan nipis (Thin cross section, TCS) telah digunakan secara meluas dalam kaedah propagasi secara *in vitro*. Teknik ini digunakan untuk memperbanyakkan beberapa spesies orkid utama sejak beberapa dekad yang lepas (Rao, 1977; Arditti & Ernst, 1993). Ia melibatkan pemotongan secara keratan rentas ataupun keratan lintang pada eksplan yang digunakan.



RUJUKAN

- Abd. Karim bin Abd. Ghani, dan Hairani Haris, 1989. Perambatan orkid melalui kultur tisu. *Penyelidikan Semasa Sains Hayat*, 151-169.
- Ahn, I. O., Gendy, C., Thanh, V. T. K. dan Le, B. V., 1966. Direct embryogenesis through the thin cell layer culture system in *Panax ginseng*. *Plant Cell Tissue Culture* **45**, 237-243.
- Arditti, J., 1966. The effect of niacin, adenin, ribose and niacinamide co-enzyme on germinating orchid seeds and young seedling. *American Orchid Society Bulletin* **35**, 392-398.
- Arditti, J., 1977. Clonal propagation of orchid by means of tissue culture - a manual. Dlm: Arditti, J. (pnyt.) *Orchid Biology: Reviews and Perspective I*. Cornell University Press, New York, 202-293.
- Arditti, J. dan Ernst, R., 1993. *Micropropagation of Orchids*. John Wiley & Sons.
- Begum, A. A., Tamaki, M. dan Kako, S., 1994. Formation of protokorm-like bodies (PLB) and shoot development through in vitro culture of outer tissue of *Cymbidium* PLB. *J. Jpn. Soc. Hrt. Sci* **63** (3), 663-673.
- Bivins, J. L. dan Hackett, W. D., 1969. The effect of medium & wounding technique on aseptic culture of *Cymbidium* orchids from shoot apices. *Plant Propagator* **15**, 9-14.
- Bonner, J. T., 1937. Vitamin B₁, a growth factor for higher plants. *Science* **85**, 183-184.



- Cheah, K. T. dan Sagawa, Y., 1978. *In vitro* propagation of *Aranda* Wendy Scott and *Aranthera* James Storei. *Hort. Sci* **11**, 530.
- Curtis, J. T., 1943. Germination and seedling development in five species of *Cyperidium*. *Am. J. Bot* **30**, 199-206.
- Ernst, R., 1975. Studies in asymbiotic culture of orchids. *Am. Orchid. Soc. Bull.* **44**, 12-18.
- Fonnesbech, M., 1972. Growth hormones and propagation of *Cymbidium in vitro*. *Physiol Plant* **27**, 310-316.
- Garg, L., Bhandari, N. W., Rani, V. dan Bhojwani, S. S., 1996. Somatic embryogenesis and regeneration of triploid plant in endosperm culture of *Acacia nilotica*. *Plant Cell Rep.* **15**, 855-858.
- Gautheret, R. J., 1942. *Manual technique de culture des tissue vegetaux*. Paris
- George, E. F. dan Sherrington, P. D., 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Limited.
- Goh, C. J., 1970. Tissue culture of *Vanda Miss Joaquim*. *Jour Singapore Nat. Acad. Sci* **21**, 31-33.
- Goh, C. J., Loh, C. S. dan Rao, A. N., 1975. Clonal propagation of *Aranda* hybrids through shoot meristem culture. *Proceeding of Seminar Biology in Society*, 1975, Singapore, 27-35.
- Intuwong, O. dan Sagawa, Y., 1974. Clonal propagation of *Phalaenopsis* by shoot-tip culture. *American Orchid Society Bulletin* **43**, 893-895.



- Intuwong, O. dan Sagawa, Y., 1975. Clonal propagation of *Dendrobium Golden Wave* and other nobile type. *American Orchid Society Bulletin* **44**, 319-322.
- Irawati, S. S., Harjadi, H., Suseno, dan Idris., 1977. Tissue culture of *Aranthera James Storie*. *Orchid Review* **85**, 138-142.
- Kim, K. K., Kunisaki, J. T. dan Sagawa, Y., 1970. Shoot tip culture of *Dendrobium*. *American orchid Society Bulletin* **39**, 1077-1080.
- Koch, L., 1974. Ergyieiche vermehrungvon *Phalaenopsis in vitro*. *Gartenwert* **74**, 482-484.
- Kunisaki, J. T., Kim, K. K. dan Sagawa, Y., 1972. Shoot-tip culture of *Vanda*. *American Orchid Society Bulletin* **41**, 435-439.
- Lakshmanan, P., Loh, C. S. dan Goh, C. J., 1995. An in vitro method for rapid regeneration of a monopodial orchid hybrids *Aranda* 'Deborah' using thin cross section. *Plant Cell Rep* **18**, 166-172.
- Lam, T. W., Ernst, R., Arditty, J. dan Ichihashi, S., 1991. The effect of complex additives and 6-purine on the proliferation of *Phalaenopsis* protocorms. *Landleyana* **6** (1), 24-26.
- Lami, R., 1927. Inflorescence une peptone sur. La germination de quelques vandeas. *Academy Science Paris* **184**, 1579-1581.
- Le, B. V., Jeanneau., Domy, N. T. dan Vidal, J., 1998. Rapid regeneration of whole plant in large crabgrass using thin cell layer culture. *Plant Cell Rep.* **18**, 166-172.



- Letham, D. S., 1968. A new cytokinin bioassay and the naturally occurring cytokinin complex. Dlm: Wightman, F. dan Setterfield. G. (pnyt.) *Biochemistry and physiology of plant growth substance*. Runge Press, Ottawa, 19-31.
- Letham, D. S., 1974. Regulators of cell division in plant tissue. The cytokonins of coconut milk. *Physiol. Plant* **32**, 66-70.
- Lindermann, E. G. P., Gurikel, J. E. dan Davidson, O. W., 1976. Meristem culture of *Cattleya*. *American orchid Society Bulletin* **39**, 1002-1004.
- Loh, C. S., Goh, C. J. dan Rao, A. N., 1978. Some factor effecting morphogenesis of Aranda orchid tissue culture. *Proceeding Symposium on Orchidology*, 1978, Singapore, 43-45.
- Mellor, F. C. dan Smith, S., 1977. In Reneirt & Bajaj (eds).
- Morel, G. M., 1960. Producing virus free *Cymbidium*. *American Orchid Society Bulletin* **29**, 495-497.
- Morel, G. M., 1965. Clonal propagation of orchid by meristem culture. *Cymbidium Society News* **2**, 3-11.
- Morel, G. M., 1972. Morphogenesis of stem apical meristem cultivated *in vitro*: application to clonal propagation. *Phytomorphology* **22**, 265-277.
- Morel, G., 1974. Tissue culture- a new means of clonal propagation of orchids. *Am. Orchid Soc. Bull.* **33**, 473-478.
- Murthy, H. N. dan Pyati, A. N., 2000. Micropropagation of *Aerides maculosum* Lindl. *In vitro Cell. Dev. Biol. Plant* **36**, 223-226.



- Nayak, N. R., Rath, S. P. dan Patnaik, S. N., 1977. In vitro propagation of three epiphytic orchids through thiadizuron-induced high frequency shoot proliferation. *Scientia Hortic* **71**, 243-250.
- Pritchard, N. W., 1989. *Modern Methods in orchids Conservation: The Role of Physiology, Ecology and Management*. Cambridge Uni. Press.
- Quoirin, M., da Silva, M. C., Martin, K. G. dan de Olivera, D. E., 2002. Multiplication of juvenile black wattle by microcutting. *Plant Cell Tissue Org. Cult.* **66**, 199-205.
- Rao, A. N., 1977. *Tissue culture in Orchid Industry* **3**, 44-69.
- Reisenger, D., Ball, E. dan Arditti, J., 1976. Clonal propagation of *Phalaenopsis* by means flower-stalk node culture. *Orchid review* **84**, 45-52.
- Rotor, G., 1949. A method of vegetative propagation of *Phalaenopsis in vitro*. *Acta Hortic* **64**, 21-23.
- Rout, G. R., Samantaray, S. dan Das, P., 1995. Somatic embryogenesis and plant regeneration from callus culture of *Acacia catechu*-a multipurpose leguminous tree. *Plant Cell Tissue Org. Cult.* **42**, 283-285.
- Sagawa, Y., 1961. Vegetative propagation of *Phalaenopsis* by stem cutting. *American Orchid Society Bulletin* **30**, 808-809.
- Sagawa, Y. dan Shoji, T., 1966. Clonal propagation of *Cymbidium* through shoot meristem culture. *American Orchid Society Bulletin* **35**, 118-112.
- Sagawa, Y. dan Shoji, T., 1967. Clonal propagation of *Dendrobium* through shoot tip culture. *American Orchid Society Bulletin* **36**, 856-859.



- Scully, R., 1966. Stem propagation of *Phalaenopsis*. *American Orchid Society Bulletin* **35**, 40-42.
- Scully, R., 1967. Aspect of meristem culture of *Cattleya alliance*. *American Orchid Society Bulletin* **36**, 103-108.
- Seeni, S. dan Latha, P. G., 1992. Foliar regeneration of endangered *Red vanda*, *Renanthera imschootiana* Rolfe (Orchidaceae). *Plant Cell Tissue Cult.* **29**, 167-172.
- Shantz, E. M. dan Steward, F. C., 1952. Coconut milk factor: The growth promoting substance in coconut milk. *J. Am. Chem. Soc* **74**, 6133-6135.
- Shantz, E. M. dan Steward, F. C., 1955. The identification of compound a from coconut milk as 1,3-diphenylurea. *J. Am. Chem. Soc* **77**, 6351-6353.
- Shultes, R. E. dan Pease, A. S., 1963. *Generic Name of Orchid*. Academic Press, New York.
- Smith, J. J., 1909. *Phalaenopsis*. *Dep. Agric. Indes. Bull* **22**, 45.
- Staden, J. V. dan Steward, J., 1975. Identification of zeatin and zeatin riboside in coconut milk. *Physiol. Plant* **34**, 106-199.
- Steward, F. C. dan Mapes, M. O., 1971. Morphogenesis in aseptic cell culture of *Cymbidium*. *Bot. Gaz* **132**, 65-70.
- Street, H. E., 1977. In Street, H. E., 1977. Ed.



- Tanaka, M., Hasegawa, A. dan Moi, M., 1975. Studies on the clonal propagation of monopodial orchids by tissue culture I. Formation of protocorm-like bodies from leaf tissue in *Phalaenopsis* and *Vanda*. *J. Jap. Soc. Hort. Sci* **44**, 47-58.
- Teng, W. L., Nicholson, L. dan Teng, M. C., 1997. Micropropagation of *Spathoglottis plicata*. *Plant Cell Rep.* **16**, 831-835.
- Teo, K. H., Kunisaki, T. dan Sagawa, Y., 1973. Clonal propagation of strap-leafed *Vanda* by shoot-tip culture. *American Orchid Society Bulletin* **42**, 402-405.
- Thompson, P. A., 1977. *Orchid From Seed*. Royal Botany Garden.
- Tse, A. T. Y., Smith, R. J. dan Hackett, W. P., 1971. Adventitious shoot formation on *Phalaenopsis* nodes. *American Orchid Society Bulletin* **34**, 410-413.
- Tsukamoto, Y., Kano, K. dan Katsura, T., 1963. Instant media for orchid seed germination. *American Orchid Society Bulletin* **22**, 354-355.
- Tulecke, W., Weinstein, L. H., Rutner, A. dan Laurencot, H. J., 1961. The biochemical composition of coconut water (coconut milk) as related to it's use in plant tissue culture. (contr). *Boyce Thompson Inst.* **21**, 115-128.
- Van Overbeck, J., Conklin, M. E. dan Blakeslee, A. F., 1941. Factors in coconut milk essential for growth and development of very young *Datura* embryos. *Science* **94**, 350-351.
- Van Staden, J. dan Drewes, S. E., 1975. Identification of zeatin and zeatin riboside in coconut milk. *Plant. Physiol* **34**, 106-109.
- Vajrabhaya, M. dan Vajrabhaya, T., 1970. Tissue culture of *Rhynchostylis gigantea*, a monopodial orchid. *American Orchid Society Bulletin* **39**, 907-910.



- Valmayor, H. L., Pimentel, M. L. dan Martinez, M. T., 1986. Callus formation and plantlet morphogenesis in *Vanda*. *Malayan Orchid Review* **20**.
- Vasil, I. K. dan Hiddebrant, A. C., 1966. *Am. J. Bot* **53**, 860-869.
- White, P. R., 1943. *A handbook of tissue culture*. Ronald Press New, York.
- Wilfret, G. J., 1966. Formation of protocorm-like bodies on excised *Cymbidium* shoot-tip. *American Orchid Society Bulletin* **35**, 823-827.
- Wimber, D., 1963. Clonal propagation of *Cymbidium* through tissue culture of the shoot meristem. *American Orchid Society Bulletin* **32**, 105-107.
- Wimber, D. E., 1965. Additional observation on clonal propagation of *Cymbidium* through culture of shoot meristems. *Cymbidium Soc. News*.
- Wreickmeister, P., 1971. Light and induction geotropism and the control of proliferation and growth of *Cymbidium* in tissue culture. *Bot. Gaz* **132**, 342-350.
- Yam, T. W., Ernst, R., Arditti, J. dan Ichihashi, S., 1991. The effect of complex additive and 6 (dimethylallylamino)-purine on the proliferation of *Phalaenopsis* protocorms. *Lindleyana* **6**, 24-26.
- Zimmer, K. dan Pieper, W., 1977. Zur vegetativen vermehrung von *Phalaenopsis in vitro*. *Orchidee* **23**, 118-122.

