

KESAN HORMON TERHADAP PENGGANDAAN *PAPHIOPEDILUM*
ROTHSCHILDIANUM SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN PROTOKOM

JUDITH SAIKEH

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

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2007



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: KESAN HORMON TERHADAP PENGGANDAAN PAPHIOPEDILUM
ROTHSCHILDIANUM SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN PROTOKOM

Ijazah: IJAZAH SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN (BIOTEKNOLOGI)

SESI PENGAJIAN: 2004/2005

Saya JUDITH SAIKEH
 (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

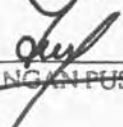
(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD



(TANDATANGAN PENULIS)

Disahkan oleh



(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: KG. KIAN NULUH,
D/ASRI Romilan, PS 485,

89308 RANAU, SABAH.

DR. ZALEHA ABDUL AZIZ

Nama Penyelia

Tarikh: 27 APRIL 2007

Tarikh: 27 APRIL 2007

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 diketaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

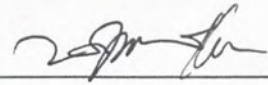
@ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENGAKUAN

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

20 APRIL 2007



JUDITH SAIKEH
HS2004-3422

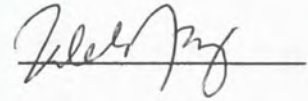


DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

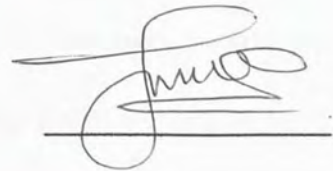
1. PENYELIA

DR. ZALEHA ABDUL AZIZ



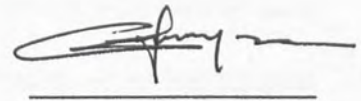
2. PEMERIKSA 1

DR. JUALANG AZLAN GANSAU



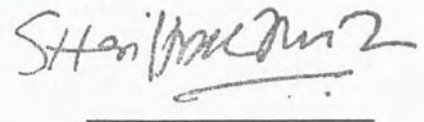
3. PEMERIKSA 2

DR. IVY WONG NYET KUI



4. DEKAN

SUPT/KS.PROF.MADYA DR. SHARIFF A.KADIR OMANG



PENGHARGAAN

Pertama sekali, saya ingin memanjatkan rasa syukur kepada Tuhan kerana berkat pertolongan-Nya saya dapat menyiapkan kerja-kerja penulisan disertasi ini. Dalam kesempatan ini juga, saya ingin mengucapkan setinggi-tinggi penghargaan kepada penyelia projek tahun akhir saya, Dr. Zaleha Abdul Aziz. Bantuan dan tunjuk ajar yang diberikan oleh beliau sangat membantu saya dalam menyempurnakan projek tahun akhir saya ini. Tidak lupa juga kepada rakan- rakan seprojek saya terutamanya Roslin dan Mohd. Tamrin yang banyak berkongsi maklumat dan bantuan sepanjang tempoh ini serta kepada pihak yang telah memberikan tunjuk ajar dan bantuan secara langsung atau tidak langsung. Ucapan terima kasih yang tidak terhingga juga ditujukan khas buat rakan-rakan seprogram yang turut banyak membantu berkongsi idea dan kerjasama sepanjang tempoh projek ini. Segala jasa dan kebaikan anda semua hanya Tuhan mampu membalasnya.

Setinggi-tinggi penghargaan. Sekian dan terima kasih.

JUDITH SAIKEH

PROGRAM BIOTEKNOLOGI (SST)

HS2004-3422



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

ABSTRAK

Paphiopedilum rothschildianum merupakan salah satu daripada spesies orkid liar yang semakin terancam pada masa kini. Salah satu cabang tisu kultur iaitu teknik mikropropagasi telah diaplikasikan ke atas *P. rothschildianum* untuk menghasilkannya dalam kuantiti yang banyak dalam jangka waktu yang lebih singkat. Kajian ini adalah untuk mengkaji kesan hormon ke atas proliferasi serta perkembangan protokom *P. rothschildianum*. Protokom *P. rothschildianum* dikulturkan ke atas medium RE (Robert Ernst, 1967) yang mengandungi hormon auksin (NAA dan 2,4-D) dengan kepekatan yang berbeza (0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L) serta hormon sitokinin (BAP) juga dengan kepekatan yang berbeza (0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 mg/L). Ketiga-tiga hormon ini ditambahkan secara tunggal ke dalam medium RE dan juga kombinasi hormon sitokinin dan auksin (BAP dengan NAA serta BAP dengan 2,4-D). Dalam kajian ini, didapati bahawa eksplan yang dikulturkan atas media yang ditambahkan dengan hormon NAA secara tunggal dengan kepekatan 0.5mg/L tela merangsangkan proliferasi protokom bermula pada hari ke-30 dan mencatatkan min protokom baru yang paling tinggi (6.1 ± 7.2) serta menunjukkan kadar pertumbuhan yang cepat. Bagi rawatan dengan hormon 2,4-D, kadar proliferasi yang paling tinggi dapat dilihat dalam media kawalan (0mg/L) iaitu dengan purata 3.0 ± 0.7 pada hari ke-120 pemerhatian. Kadar proliferasi yang rendah dilihat dalam media dengan kepekatan 1.0mg/L iaitu min purata sebanyak 2.5 ± 1.7 pada hari ke-120 pemerhatian. Untuk hormon BAP pula, didapati media dengan kepekatan 0.5 mg/L (2.9 ± 1.0) serta media dengan kepekatan 2.0 mg/L (2.4 ± 1.7) menunjukkan purata protokom baru yang tinggi pada hari ke-120 pemerhatian dijalankan. Kesan kombinasi hormon pula adalah negatif menunjukkan protokom tidak sesuai dikulturkan dalam media ini dengan kehadiran kombinasi hormon. Daripada kajian ini, boleh dikatakan bahawa kesan hormon NAA secara tunggal dengan kepekatan 0.5 mg/ml dalam media RE yang ditambahkan dengan vitamin MS (kekuatan penuh), sukrosa dan 10% air kelapa adalah sesuai dijadikan media untuk proliferasi serta untuk pertumbuhan protokom kepada plantlet dengan cepat.



ABSTRACT

Paphiopedilum rothschildianum is a wild type orchid which is categorized as an endangered species. Micropropagation technique, one of the most popular techniques in tissue culture was applied on *P. rothschildianum* to produce it in a large quantity in a short period of time. This research was to evaluate the effect of hormone in the multiplication and development of *P. rothschildianum* protocorms. Protocorms of *P. rothschildianum* was cultured on RE medium (Robert Ernst, 1967) which contains auxin (NAA and 2, 4-D) at different concentrations (0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/ml) and cytokinin (BAP) at different concentrations (0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 mg/ml). These three types of hormone were added as single hormone in the media and also in combination of cytokinin and auxin (BAP with NAA also BAP with 2, 4-D). Result showed that the medium containing NAA with concentration of 0.5mg/L has induced proliferation of protocorms starting from the days 30 of cultivation with highest min of new protocorms(6.1±7.2) and also a rapid development. Treatment with 2,4-D, showed highest proliferation rate in the control media (0mg/L) with average 3.0±0.7 on the days 120 of cultivation. Low proliferation rate was shown in media with concentration of 1.0mg/L with average min of 2.5±1.7 on days 120 of observation. For treatment with BAP, media with concentration of 0.5 mg/L (2.9±1.0) and 2.0 mg/L (2.4±1.7) has shown to be the best condition as it gave highest min of new protocorms. Treatments with combination of hormone showed a negative result where all the explants were dead on the 30th day of culture. In conclusion, it can be said that the present of single NAA with concentration of 0.5 mg/ml in the RE media added with full strength of MS vitamin, sucrose and 10 % (v/v) coconut water is effective for proliferation and development of *P. rothschildianum* protocorms.



SENARAI KANDUNGAN

Muka Surat

HALAMAN JUDUL	i
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	viii
SENARAI RAJAH	ix
SENARAI FOTO	x
SENARAI UNIT	xi
SENARAI SINGKATAN	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	4
2.1 Ciri-ciri umum orkid	4
2.1.1 Orkid Simpodial	5
2.1.2 Orkid Monopodial	7
2.1.3 Pertumbuhan Benih Orkid	8
2.2 Genus <i>Paphiopedilum</i>	11



2.3 <i>Paphiopedilum rothschildianum</i>	13
2.4 Mikropropagasi	15
2.5 Faktor-faktor mempengaruhi mikropropagasi orkid	17
2.5.1 Hormon	18
2.5.1.1 Sitokinin	
2.5.1.2 Auksin	
2.5.2 Media Kultur	20
2.5.3 Kompleks aditif	23
2.5.4 Sumber karbon	24
2.5.5 Ph	25
2.5.6 Faktor Fizikal dan persekitaran	27
2.5.6.1 Suhu	
2.5.6.2 Keamatan cahaya	
2.5.6.3 Pengudaraan	
BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH	29
3.1 Sumber Eksplan	29
3.2 Penyediaan medium kultur	29
3.3 Kaedah penyediaan media	
3.3.1 Penyediaan larutan stok makronutrien RE	34
3.3.2 Penyediaan hormon	34
3.3.3 Penyediaan suplimen air kelapa (aditif)	36
3.3.4 Penyediaan medium RE	36



3.4 Pengkulturan protokom	38
3.4.1 Kondisi Protokom	39
3.4.2 Persekitaran kultur	39
3.4.3 Replikasi	39
3.4.4 Subkultur	39
3.5 Pemerhatian dan pencerapan data	40
3.6 Analisis data	40

BAB 4 KEPUTUSAN

4.1 Perkembangan Orkid	42
4.2 Kesan Kehadiran Hormon Secara Tunggal Dalam Media Kultur Terhadap Proliferasi Eksplan	43
4.3 Kesan Kehadiran Hormon NAA secara Tunggal Ke Atas Perkembangan Protokom <i>Paphiopedilum rothschildianum</i>	49
4.4 Kesan Kehadiran Hormon 2,4-D secara Tunggal Ke Atas Perkembangan Protokom <i>Paphiopedilum rothschildianum</i>	51
4.5 Kesan Kehadiran Hormon BAP secara Tunggal Ke Atas Perkembangan Protokom <i>Paphiopedilum rothschildianum</i>	53
4.6 Kesan Kehadiran Kombinasi Hormon Auksin dan Sitokinin Terhadap Eksplan	55



BAB 5 PERBINCANGAN	
5.1 Penggunaan Media RE sebagai media pengkulturan	57
5.2 Kesan Hormon Ke Atas Pertumbuhan dan Proliferasi Protokom	59
5.4 Masalah Dihadapi Sepanjang Tempoh Pengkulturan	64
5.4.1 Kontaminasi	64
5.4.2 Kedormanan Biji Benih	65
5.4.3 Kematian Eksplan	66
BAB 6 KESIMPULAN	68
RUJUKAN	70
LAMPIRAN	75



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat	
2.1	pH yang dicadangkan bagi beberapa genera orkid	26
3.1	Komponen dalam makronutrien medium RE	31
3.2	Komponen dalam vitamin MS	31
3.3	Kepekatan hormon bagi setiap rawatan (tunggal)	32
3.4	Kepekatan hormon (kombinasi) dalam media	33
4.1	Peratus Eksplan Membentuk Protokom Baru Pada Medium Dengan Hormon dan Kepekatan Yang Berbeza.	44
4.2	Purata Protokom Baru Pada Medium Dengan Hormon dan Kepekatan Yang Berbeza.	45
4.3	Peringkat Pertumbuhan Protokom Pada Medium Dengan Kepekatan Hormon NAA yang berbeza	50
4.4	Peringkat pertumbuhan Protokom Pada Medium Dengan Kepekatan Hormon 2,4-D yang berbeza	52
4.5	Peringkat pertumbuhan Protokom Pada Medium Dengan Kepekatan Hormon BAP yang berbeza	54
4.6	Peringkat Pertumbuhan Protokom Pada Medium Dengan Kombinasi Hormon BAP dan 2,4-D pada kepekatan yang berbeza.	55
4.6	Peringkat Pertumbuhan Protokom Pada Medium Dengan Kombinasi Hormon BAP dan NAA pada kepekatan yang berbeza.	56



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
2.1 Fasa pertumbuhan orkid	11
2.2 Bahagian pada pokok <i>Paphiopedilum</i>	12



SENARAI FOTO

No. Foto	Muka Surat
2.1 Anatomi orkid simpodial	7
2.2 Anatomi orkid monopodial	8
2.3 Protokom orkid <i>Paphiopedilum rotschildianum</i>	9
2.4 <i>Paphiopedilum rotschildianum</i> .	13
4.1 Proliferasi eksplan pada media dengan kepekatan hormon NAA yang berbeza	44
4.2 Proliferasi eksplan pada media dengan kepekatan hormon 2,4-D yang berbeza	45
4.3 Proliferasi eksplan pada media dengan kepekatan hormon BAP yang berbeza	46



SENARAI UNIT

°C	Darjah Celcius
kPa	Kilo pascal
g/l	gram per liter
mg/L	miligram per liter
mM	milimolar
ml ⁻¹	per mililiter
mg/mL	milligram per mililiter
ppm	part per milloin
μM	mikromolar



SENARAI SINGKATAN

Singkatan	Maksud
2,4-D	2,4- diklorofenolik asetik
BAP	6-benzilaminopurin
Min	Purata
NAA	1-naptalenasetik asid
PLB	Jasad seperti protokom
SD	Sisihan piawai



BAB 1

PENDAHULUAN

Orchidaceae merupakan salah satu famili tumbuhan berbunga dengan bentuk dan corak yang pelbagai (Mani & Nagaraju). Secara taksonomi, ia merupakan famili tumbuhan monokotiledon yang terbesar dengan 600 hingga 800 genera dan merangkumi antara 25000 hingga 35000 spesies yang berlainan. Di Malaysia, terdapat lebih daripada 111 genus dan 808 spesies orkid yang telah ditemui. Di kepulauan borneo pula, dianggarkan terdapat 148 hingga 450 genera orkid yang meliputi 2500 hingga 3000 spesies dan jumlah ini merupakan 10 peratus daripada jumlah spesies dunia (Lamb,1991; Rao,1995) dan 40 peratus daripadanya adalah endemik kepada Borneo di mana tidak terdapat di mana-mana tempat selain daripada Borneo.

Di Sabah sahaja, terdapat lebih kurang 143 genera yang meliputi antara 1500 hingga 2000 spesies dan lebih separuh daripada jumlah itu iaitu sebanyak 107 genera merangkumi 1200 spesies dijumpai di kawasan Gunung Kinabalu (Lamb,1991).



Kepelbagaian orkid yang tinggi di Sabah tertumpu di kawasan hutan Gunung Kinabalu iaitu lebih kurang 30 peratus spesies yang terdapat di negeri Sabah (Wong dan Phillipps, 1996). Tempat lain yang menjadi kawasan habitat bagi orkid di Sabah terletak di Banjaran Crocker, Segama, Tenom dan Nabawan. Terdapat tiga buah pusat pemuliharaan di Sabah iaitu, Pusat Penyelidikan Hutan di Sepilok, Pusat Orkid di Tenom dan Taman Sabah di Poring. Tempat ini juga menyimpan koleksi spesies orkid liar di Sabah (Chan *et al.*, 1994).

Terdapat beberapa spesies orkid liar yang menjadi endemik di kawasan negeri Sabah sahaja. Walaubagaimanapun, spesies orkid ini menjadi semakin terancam berikutan penebangan hutan yang memusnahkan habitat semulajadi orkid tersebut. (Nuraini, 1986). Kebanyakan spesies orkid tersebut, sebagai contoh, *Paphiopedilum* dan *Vanda* sangat jelas menunjukkan bahawa ia semakin pupus dalam habitat semulajadinya. Beberapa spesies orkid yang lain turut menjadi pupus disebabkan kewujudannya yang jarang dan mempunyai nilai hortikultur yang tinggi. Dengan demikian, spesies tersebut telah disenaraikan sebagai orkid yang semakin terancam (Pritchard 1989, Reid dan Miller 1989, Waite 1989, Wood 1989).

Bagi memastikan spesies orkid liar ini dapat dikekalkan, kaedah kultur tisu yang juga merupakan salah satu daripada cabang bioteknologi telah diaplikasikan secara meluas bagi menghasilkan anak pokok yang mempunyai ciri-ciri yang sama dengan induknya. Walaupun pada dasarnya biji benih orkid agak sukar atau mengambil tempoh yang agak lama untuk bercambah, kaedah kultur tisu telah sedikit sebanyak mengatasi



masalah ini malah dalam masa yang singkat telah pun dapat menghasilkan bilangan anak pokok yang banyak.

Objektif utama kajian ini adalah untuk mempropagasikan spesies orkid yang terpilih iaitu *Paphiopedilum rothschildianum* secara *in vitro*. Kajian ini juga bertujuan mengkaji kesan kehadiran hormon sitokinin (BAP) dan auksin (NAA dan 2, 4-D) masing-masing secara tunggal dalam medium pengkulturan ke atas pertumbuhan protokom serta menentukan kepekatan hormon yang optimum. Kehadiran hormon sitokinin (BAP) dengan auksin (NAA, 2, 4-D) secara kombinasi dalam medium pengkulturan ke atas pertumbuhan protokom serta menentukan kombinasi yang sesuai serta kepekatan optimum turut menjadi objektif utama dalam kajian ini.



BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Ciri-ciri umum orkid

Orkid ialah tumbuhan berbunga yang unik dengan bentuk dan warna yang pelbagai dan berbeza dengan tumbuhan berbunga yang lain di mana ia terdiri daripada tiga petal dan tiga sepal. Apa yang membezakan orkid dengan bunga lain ialah salah satu daripada petalnya akan berubah bentuk menjadi labelum atau bibir. Labelum adakalanya berwarna lebih cerah bagi beberapa spesies orkid. Adakalanya sepal dan petal bercantum antara satu sama lain dan keadaan ini biasanya didapati pada orkid selipar (*Paphiopedilum*, *Phragmipedium*, *Cypripedium*, *Selenepedium*, *Mexipedium* dan *Cypripedium* sebenar) di mana dua daripada sepalnya bercantum antara satu sama lain (Roland Schwahn).

Bunga orkid secara umumnya terdiri daripada sepal, petal, stamen dan pistil. Organ betina dan jantan iaitu stamen dan pistil bergabung membentuk satu kolum dimana terletaknya cepu debunga pada bahagian atasnya, stigma di bahagian tengah dan benang



sari di bahagian bawah. Pada luar sepupar bunga, terdapat tiga kelopak bunga dan sebelah dalamnya terdapat dua kelopak petal.

Debunganya terletak dalam satu pundi dikenali sebagai pundi polinia. Jumlah polinia biasanya dalam jumlah yang genap biasanya antara dua hingga 12 bergantung kepada spesies orkid (Zaharah dan Rozlaily, 1991). Ovari bunga orkid terletak pada satu kedudukan yang disebut interior ovary dan biasanya bertaut dengan tangkai bunga. Selepas berlakunya persenyawaan, ovari ini yang akan membesar menjadi buah orkid yang mengandungi biji benih. Orkid bukan sahaja tumbuh di kawasan hutan tropika, malah ia juga boleh hidup di atas batu yang mana ia menjadikan batu sebagai sokongan sama seperti ia menumpang pada pokok lain. Orkid terrestrial tumbuh di kawasan padang rumput, kawasan hutan, dan kawasan pergunungan. Seseengahnya hidup di bawah tanah dan hanya bunganya sahaja yang keluar ke permukaan pada musim berbunga. Orkid bawah tanah ini hidup bergantung kepada kandungan bahan organik yang terdapat di dalam tanah. Secara umumnya, orkid boleh dikategorikan kepada dua iaitu orkid simpodium dan orkid monopodium.

2.1.1 Orkid simpodial

Orkid simpodium atau orkid simpodial adalah orkid terrestrial yang boleh hidup sebagai tumbuhan epifit iaitu tumbuh di atas pokok lain dan boleh hidup sendiri di atas tanah. Batang orkid ini adalah berbentuk bebawang semu dengan pertumbuhan pelbagai hala. Bebawang ini adalah panjang dan beruas-ruas dan sebahagiannya pula adalah pendek dan



tidak beruas. Akar dan daun pokok orkid jenis ini terbit daripada bebawang ini. Bebawang yang telah tua akan mengeluarkan tunas baru pada pangkal rumpun sebelum ia sendiri mengecut dan mati. Tunas baru orkid ini akan mengeluarkan bunga setelah mencapai tahap kematangannya (Margaret *et al.*, 1991).

Keperluan asas bagi orkid simpodium ialah, ia memerlukan lebih kurang 50% hingga 75% persekitaran yang teduh untuk pertumbuhan yang cepat. Ia boleh tumbuh diatas tanah beraliran baik atau di dalam pasu (tanah dengan campuran serpihan bata dan arang). Tanah laterit dan tanah liat adalah kurang sesuai untuk dijadikan tapak penanaman. Contoh genus orkid kategori simpodium ialah, *Oncidium*s, *Cattleya*s dan *Dendrobium*. Foto 2.1 menunjukkan gambar foto bagi orkid simpodium.



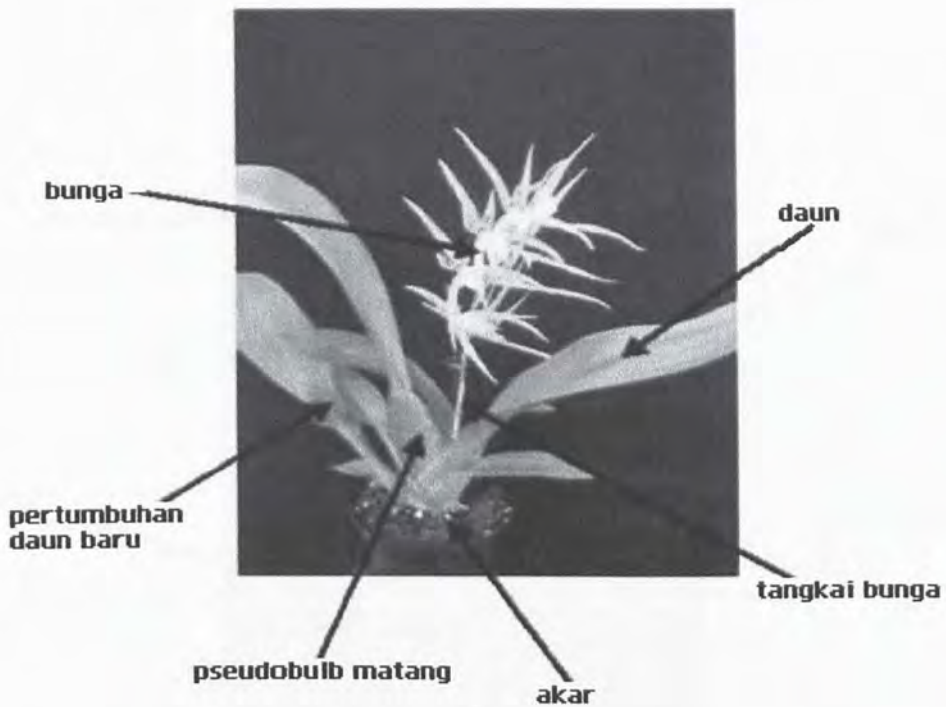


Foto 2.1 Anatomi orkid simpodial. Dipetik daripada laman web

<http://www.orchids.uk.com/images/AnatomyofaSympodialOrchid/JPG>

2.1.2 Orkid Monopodial

Bagi orkid monopodial atau monopodium, ciri-cirinya adalah seperti ia mempunyai batang kecil yang diliputi upih daun. Akar udara keluar daripada batang tersebut dengan menembusi upih daun. Selain itu, batangnya yang tidak bercabang boleh mengeluarkan tunas baru apabila dipotong. Orkid jenis ini memerlukan keadaan yang panas pada waktu siang (8 jam cahaya matahari) dan sejuk pada waktu malam. Jumlah siraman adalah bergantung kepada jenis pasu dan media penanaman yang digunakan. Contoh genus bagi

orkid monopodium ialah, *Vanda*, *Arachnis*, *Aranda*, *Renanthera*, *Phleonopis*, *Hottumara* dan *Mokara*. Foto 2.2 menunjukkan anatomi asas bagi orkid monopodial.

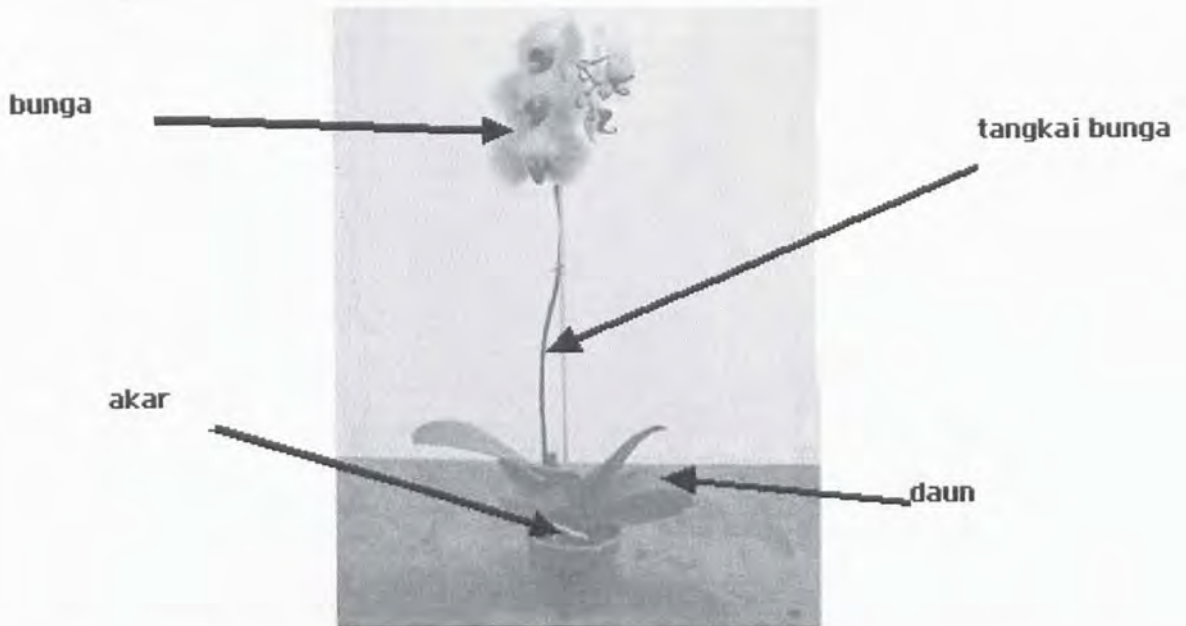


Foto 2.2 Anatomi orkid monopodial. Dipetik daripada laman web

<http://www.orchids.uk.com/images/AnatomyofaMonopodialOrchid/JPG>

2.1.3 Pertumbuhan benih orkid

Pertumbuhan biji benih orkid melibatkan beberapa fasa. Embrio orkid tidak dapat dibezakan secara relatif semasa matang sama ada dengan kehadiran endosperma atau kotiledon. Semasa percambahan biji benih, embrio membengkak dan akhirnya keluar menembusi kulit biji. Embrio berkembang menjadi benih berbentuk kon yang dikenali sebagai protokom (Bernard, 1909). Protokom ialah satu jisim sel yang dihasilkan semasa percambahan. Keperluan untuk setiap genera dan spesies adalah berbeza-beza. Protokom

RUJUKAN

- Abdul Karim A.K, dan Hairani H., 1989. *Perambatan Orkid Melalui Tisu Kultur*
Dlm. Zakri, A.H, dan Latif, A. *Penyelidikan Semasa Sains Hayat*, 151-169. Bangi.
Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Adelberg, J., Pollock, R., Rajapakse, N., Young, R., 1998. Micropropagation, decontamination, transcontinental shipping and hydroponic growth of *Cattleya* while sealed in semipermeable membrane vessels. *Scientia Horticulture*. 73. 23-35.
- Aktari Asma Begum, Masahiko Tamaki dan Shunji Kako, 1994. Formation of protocorm like bodies (PLB) and shoot development through in vitro of outer tissue of *Cymbidium* PLB. *Journal of Japan. Sec. Hort. Sci.* 63(3): 663- 673
- Arditti, J., *The Botanical Review: Factors Effecting the Germination of Orchid Seeds:* 33(1).1-30
- Arditti, J., 1982. *Seed Germination and Seedling culture*. Dlm Arditti, J. (pnyt.). *Orchid Biology: Review and Perspective II*. Cornell University Press, Ithaca, 245-278
- Beaman, J. H dan Beaman, R.S., 1990. Diversity and Distribution Patterns In the Flora of Mount Kinabalu. In Baas, P., Kalkman, K. Q Geesink, R. (ed.). *The Plant Diversity of Malesia*. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands. Pp. 147-160
- Bonga, J.M. dan Anderkas, P.Y., 1992. *Forestry Science. In Vitro Culture of Trees*. Dordrecht. Kluwer Academic Publisher.



- 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.J. dan Chang, W.C., 2002. Multiple Shoot formation and Plant Regeneration From Nodal Explant of *paphiopedilum* Orchids. *In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 38, 595-597.
- Chen, J.T., dan Chang, W.C., 2001. Effects of auxins and cytokinins on direct somatic embryogenesis on leaf explants of *Oncidium* 'Grower Ramsey'. *Plant Growth Regul* 34:229-232
- Ernst, R. Arditti, J., 1993. *Micropropagation of Orchids*. Irvine: Department of Developmental and Cell Biology. University of California.
- Gamborg, O.L. dan Philips, G.C., 1995. *Plant Cell, tissue and Organ Culture: Fundamental Methods*. Berlin: Spronger- Verleg.
- Coleman, J. O. D dan Kearns, A., *Basic Plant Cell Culture; The Basics From Background To Bench.*, BIOS Scientific, 2003
- Khaw, C.H., Ong, H.T., dan Nair, H., 1978. Hormone in the Nutrition of Orchid Tissue Culture in Orchid Propagation. *Proceeding of the Symposium on Orchidology*. 1978. 60-65
- Knudson, L., 1950. Germination of Seeds of *Vanilla*. *American Journal of Botany*. 37. 241-247



- Kotomari, S. dan Murashige., 1965. Some Aspects of Aseptic Propagation of Orchids. *American Orchid Society Bulletin*. 34. 484-489.
- Leinert, E., S.F.E. dan Hunt, P.F.,1972. *Orchid Core: A guide to Cultivation and Breeding*. Ritcher, W.(ptjr). Studio Vista Publisher, London.
- Letham, D.S., 1974. Regulators of Cell Division in Plant Tissues; The Cytokinins of Coconut Milk. *Physiology Plant* 32.66-70
- Livy, W.G., 1992. *Budidaya Anggerik*. Jakarta. Penebar Swadaya.
- McKendrick, S. *In vitro Germination of Orchids: A Manual*. Ceiba Foundation for Tropical Conservation
- Morel, G.M., 1974. Clonal Propagation of Orchid. Dlm: Whithner, C.L., (pnyt.). *Orchid Scientific Studies*. Wiley Interscience, New York, 169-222.
- Nagaraju, V. dan Mani, S.K., *Rapid In Vitro Propagation of Orchid Zygopetalum intermedium*. National Research Centre for Orchids, Pakyong 737 106, Gangtok, Sikkim, India
- Prakash, E., Khan, S.V., Meru, E., dan Rao, K.R., 2001. Somatic embryogenesis in *Pimpinella tirupatiensis* Bal. And Subr. an endangered medicinal plant of Tirumala hills. *Curr Sci* 81: 1239–1241
- Pritchard, H.W., 1989. *Modern Methods in Orchid Conservation. The Role Physiology, Ecology and Management*. Cambridge University Press, England.



- Rao, A.N., 1992. Selection, Improvement and Germplasm Conservation of the Ornamental Plants, Orchids and ornamental Plants in Asean: *Proceeding of the International Conferences and Exhibition Orchid and Ornamental plants, Eight Asean Orchid Congress: 61-62*, Petaling Jaya: International Conference and Exhibition on orchid and Ornamental Plants.
- Reinert, A. & Mohr, H.C., 1967. Propagation of *Cattleya* by tissue culture of lateral buds meristem. *Proc. Am. Soc Hort* 91:664-671.
- Schmude, H.V., Lucke, N.F., Ernst, R. dan Arditti, J. 1986. *Paphiopedilum rotschildianum*, *American Orchid Society Bulletin*. 55. 579-584
- Seeni, S. dan Latha, P.G., 2000. In Vitro Multiplication and Ecorehabilitation of endangered blue vandal. *Plant Cell, Tissue and organs* 61:1-8
- Stewart, J., 1989. Orchid Propagation by Tissue Culture Technique- Past, Present and Future. Dlm: Pritchard, H.W., (ed.). *Modern Method in Orchid Conservation: The Role of Physiology, Ecology and Management*. Pp.87-100. Cambridge University Press.
- Tanaka, M. (1992). *Micropropagation of Phalaenopsis spp.* In: Bajaj YPS (ed) High-tech and micropropagation. *Biotechnology in agriculture and forestry*, vol 20. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 246-268.
- Tulecke, W., Weinstein, L.A., Rutner, A. & Laurenat, H.J., 1961. *The Biochemical Composition of Coconut Water As Related To Its Use in Plant Tissue Culture*. *Contr. Boyce. Thomson Inst* 21:115-118
- Nagaraju, N. dan Mani, S. K., *Rapid In Vitro Propagation of Orchid Zygopetalum intermedium*. *National Research Centre for Orchids, Pakyong 737 106, Gangtok, Sikkim, India*



Vermeulen, J.J., *Orchids of Borneo*. Royal Botanic Gardens, Kew. England

Veramy Orchids. *A comprehensive Guide to Orchid Culture*. Brewster, New York.

Vij, S. P. dan Pathak, P., 1989. Micropropagation of *Dendrobium chrysanthum* Wall. Through pseudobulb segments. *Journal of Orchid Society of India*, 3: 25-28.

Whithner, C.L., 1974. Developmental of Orchid Physiology. Dlm Whithner C.L. (pnyt.). *The Orchid: Scientific Studies*. John Wiley & Sons, New York, 129-260

Zaharah Hassan dan Rozaily Zainol, 1991. Penanaman Orkid. *Institusi Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia (MARDI)*, Malaysia.

