

Pada masa kini teknik kultur tisu telah digunakan bagi tujuan pembiakan atau pengklonan secara cepat dan banyak dengan kos yang murah di mana teknik inilah yang membawa kepada perkembangan dan kemajuan industri orkid dan bunga keratan di Thailand, Singapura, Malaysia dan lain-lain negara (Nor Auni, 1996).

Menurut Arditti (1993), beliau menyatakan bahawa masa depan kultur tisu tumbuhan adalah amat cerah dan sentiasa berubah dan maju ke hadapan. Sebagai contoh pada masa kini teknik pengkulturan sel dan protoplas berkeupayaan untuk membiakkan spesies tumbuhan yang buat masa ini belum dapat dibiakkan melalui teknik kultur tisu seperti tanaman orkid *Cypripedium* dan *Phragmipedium*. Beliau juga tidak menafikan penggunaan komputer dan automasi pada masa akan datang untuk menukar media atau membuat stok hormon selari dengan kehendak dan keperluan kultur tisu, di mana dengan ini akan menghasilkan pembiakan yang lebih cepat dan jitu serta mengurangkan mutasi *in vitro* berlaku. Satu lagi bidang yang mula mendapat perhatian dunia dan tidak kurang pentingnya dalam perkembangan kultur tisu adalah penyimpanan sejuklampaui atau kriopengawetan di mana kaedah ini menggunakan kalus, protokom, tisu, embrio atau anak benih tiruan untuk tujuan penyimpanan janaplasma.

Kultur *in vitro* adalah pembiakan yang dilakukan dalam keadaan yang steril. Pembiakan cara ini dapat menghasilkan bahan tanaman yang banyak dalam masa yang singkat serta dengan kos yang murah di mana ciri-cirinya adalah serupa dengan induk. Teknik ini boleh dilakukan sepanjang tahun untuk sesuatu

spesies tanaman yang sukar dibiakkan dengan cara pembiakan biasa atau untuk penghasilan sesuatu varieti tanaman yang baru melalui proses kejuruteraan genetik. Tanaman yang dihasilkan melalui teknik ini juga adalah bebas dari patogen seperti penggunaan kultur meristem pada tanaman orkid *Cymbidium* (Rao, 1977), *Solanum tuberosum* (Mellor dan Stace-Smith, 1977) dan strawberi (*Boxus* et al., 1977).

Kepentingan Ekonomi

Bunga ros adalah sejenis tanaman hiasan yang paling utama di dunia (Robinson dan Firoozabady, 1993) dan mendapat gelaran di seluruh dunia sebagai 'Ratu Bunga' (Genders, 1965). Pada masa kini kebanyakan kultivar ros untuk pasaran komersial adalah jenis hibrid. Di Malaysia penanaman bunga ros terdapat kebanyakannya di Cameron Highlands dan tertumpu hanya untuk pengeluaran keratan bunga. Di dalam industri keratan bunga ros, hibrid dari kumpulan 'Hybrid Tea' dan 'Floribunda' lebih digemari dan banyak ditanam oleh pengusaha-pengusaha bunga ros berbanding dengan 'Polyantha' dan 'Grandiflora'. *Rosa hybrida* varieti 'Christian Dior' adalah di bawah kumpulan 'Hybrid Tea'.

Ros telah ditanam untuk pelbagai tujuan, antaranya untuk mendapatkan minyak pati, pewangi, keratan bunga dan tanaman hiasan (Sala, 1991). Ros juga digunakan sebagai bunga awetan (Khafiah, 1992) di mana kepentingan ros sebagai bunga awetan berkeupayaan menstabilkan harga keratan bunga segar dan seterusnya mengelakkan pembaziran guna tenaga. Ini kerana permintaan untuk

keratan bunga segar seperti bunga ros, teluki, kekwa dan lain-lain hanya meningkat pada musim-musim perayaan tertentu sahaja.

Bunga ros mempunyai pelbagai warna iaitu dari merah, putih, merah jambu, kuning, jingga hingga kepada warna ungu dengan pelbagai kombinasi warna di tengahnya. Daripada variasi warna ini, merah tetap menjadi pilihan dan permintaan utama di mana lebih kurang 60% daripada permintaan keseluruhan keratan bunga ros. Rupa bentuk bunga ros juga pelbagai iaitu samada berbentuk korymbosa, panikulat atau tunggal. Bunga ros boleh menghasilkan buah atau digelar 'hip' yang mengandungi vitamin C yang tinggi dan selalu digunakan untuk tujuan pembaikbakaan atau penghasilan kultivar baru (Hasek, 1980). Pokok ros boleh dibiakkan melalui empat cara iaitu samada melalui biji benih, keratan, cantuman tunas atau tut. Kos penanaman dengan menggunakan teknik cantuman tunas adalah lebih mahal tetapi jangka hayat ekonominya lebih panjang iaitu lebih kurang 20 tahun berbanding dengan cara tut di mana jangka hayat ekonominya lebih pendek iaitu 5 tahun. Kebanyakan pengusaha industri keratan bunga ros lebih gemar menggunakan kaedah tut kerana ia mudah dibiak, mengambil masa yang singkat dan kosnya rendah.

Teknik Propagasi Dan Masalahnya

Biji Benih

Biji benih ros boleh diperolehi daripada buah atau 'hip' yang matang. Biji benih ini tidak akan bercambah apabila disemai. Biji benih ini perlu melalui satu proses rawatan biji benih untuk memecahkan kedormanannya iaitu dengan

menyimpannya dalam bilik sejuk bersuhu 4°C selama 3 atau 4 minggu sehingga 5% daripada biji benih ini mula bercambah. Setelah itu barulah ia dipindah pada suhu 18 – 21°C di mana dalam masa 2 hingga 3 minggu percambahan sepenuhnya berlaku. Biji benih ros juga boleh dicambahkan dengan menggunakan teknik kultur tisu iaitu menggunakan buah yang belum matang atau masih hijau.

Keratan

Masalah utama kaedah pembiakan melalui keratan ialah tidak semua bahagian pokok ros boleh diambil untuk dibuat keratan dan boleh menghasilkan bunga yang besar dan berkualiti. Ini kerana kualiti anak pokok bergantung kepada jenis dahan yang diambil di mana jika dahan yang dibuat keratan itu subur dan menghasilkan bunga yang besar serta berkualiti, hasilnya adalah serupa dengan induknya. Kaedah ini didapati mengambil masa 5 hingga 6 minggu untuk berakar.

Cantuman Tunas

Jarang sekali kaedah ini digunakan untuk tujuan komersial kerana ia memerlukan pokok penanti yang berumur setahun dan mata tunas. Anak pokok yang terhasil melalui kaedah ini perlu disimpan di tempat yang mempunyai perlindungan 80% dari cahaya matahari dan berkelembapan tinggi bagi mengelakkan mata tunas dari kekeringan dan mati. Cantuman mata tunas akan bercantum sepenuhnya dalam masa 10 hari dan selepas sebulan barulah boleh dipindah ke ladang.

Tut

Kaedah ini paling popular dan digemari oleh ramai pengusaha keratan bunga ros kerana mudah dibiakkan, cepat dan kosnya murah. Ranting atau dahan yang hendak dibuat tut mestilah matang dan subur bagi menghasilkan anak pokok yang berkualiti. Kaedah ini mengambil masa 3 hingga 4 minggu untuk berakar dan selepas 3 minggu pengakaran barulah ia dikerat dan dipindah ke ladang atau tapak semaian.

Justeru itu, kajian kultur tisu yang hendak dijalankan ini ke atas tanaman ros yang mempunyai nilai komersial yang tinggi adalah amat penting untuk melihat keberkesanan kaedah kultur tisu ke atas tumbuhan ini. Objektif lain adalah untuk melihat respons pelbagai sumber eksplan terhadap pelbagai kombinasi auksin dan sitokinini dalam usaha untuk mendapatkan satu sistem regenerasi yang terbaik, berkesan dan menjimatkan. Pada asalnya kajian aktiviti sel juga telah dirancang untuk dijalankan tetapi kerana tiada akar terbentuk sepanjang kajian ini, maka kajian aktiviti sel tidak dapat dijalankan untuk membandingkan kedua-dua spesies iaitu *R. hybrida* dan *Zinnia elegans*.

6.2 BAHAN DAN KADEAH

6.2.1 Sumber Eksplan dan Teknik Pensterilan

Oleh kerana biji benih *Rosa hybrida* L. var. ‘Christian Dior’ sukar didapati serta sukar untuk bercambah, tumbuhan ‘intact’ telah digunakan sebagai sumber untuk mendapatkan eksplan dalam kajian ini. Eksplan yang telah digunakan untuk memulakan kultur adalah daun, batang, petiol dan tunas sisi.

Kesemua eksplan ini terlebih dahulu dicuci dengan air suling sebanyak 3 kali selama 5 minit. Eksplan seterusnya dicuci dengan natrium hipoklorit atau klorox yang berkepekatan 70% selama 3 minit, 50% selama 7 minit, 30% selama 12 minit dan 15% selama 15 minit. Eksplan seterusnya telah dicelup ke dalam 70% ethanol selama 1 minit dan akhirnya dibilas lagi dengan air suling steril selama 3 minit sebanyak 3 kali. Setiap larutan natrium hipoklorit perlu dicampur dengan Tween 20 sebanyak 3 titik dan setiap turutan pencucian eksplan digoncang selama 1 minit.

6.2.2 Penyediaan Media

Di dalam kajian ini hanya media Murashige dan Skoog (1962) dengan kombinasi hormon BAP dan NAA sahaja yang telah digunakan. Ini berdasarkan kajian-kajian terdahulu yang telah dilakukan di mana didapati media MS dengan kombinasi hormon BAP dan NAA sahaja yang memberikan respon yang terbaik.

Media dengan kepekatan sukrosa sebanyak 3.0% dan agar 0.8% serta perlu ditetapkan nilai pHnya pada 5.8. Media kemudiannya telah diautoklaf pada suhu 120°C dengan tekanan 1.2kg/m² selama 20 minit. Sebanyak 30ml media telah dituangkan ke dalam bekas kultur bersaiz 150ml atau sebanyak 10ml ke dalam bekas tiub kultur steril yang bersaiz 60mm tinggi dan bergarispusat 45mm dalam keadaan aseptik.

6.2.3 Pengkulturan Eksplan Ke Atas Media

Eksplan yang telah disteril, dipotong kepada kepingan kecil yang bersaiz 1.0sm². Bagi eksplan daun, hanya daun yang muda sahaja yang boleh digunakan di mana bahagian tepi daun dipotong untuk meluka dan mendedahkan bahagian ini kepada media. Di atas permukaan media, eksplan daun telah diletakkan dengan polariti yang berlawanan iaitu bahagian atas permukaan daun ditelangkupkan ke atas permukaan media. Bagi eksplan petiol dan batang pula ianya perlu dikerat sepanjang 1.0sm dan hanya bahagian yang muda sahaja yang telah digunakan. Bagi eksplan tunas sisi pula, kebanyakannya telah di ambil dari bahagian batang separuh matang yang mempunyai mata tunas dan dipotong sepanjang 1.0sm juga.

Setiap perlakuan hormon telah disediakan 20 replikasi dan setiap replikasi ada mengandungi 2 eksplan. Kesemua kultur ini telah disimpan di dalam bilik kultur bersuhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$ dengan keadaan 16 jam cahaya dan 8 jam gelap. Pemerhatian dan pengambilan data perlu dilakukan setiap minggu sehingga minggu kelapan bergantung kepada keupayaan setiap eksplan untuk menginduksi pucuk, akar atau kalus. Proses subkultur perlu dilakukan setiap 4 minggu.

6.2.4 Penentuan Kombinasi Hormon BAP dan NAA yang Sesuai

Sebanyak 24 kombinasi hormon BAP dan NAA telah digunakan untuk mendapatkan julat yang sesuai bagi mendapatkan kalus, pucuk atau akar. Berikut adalah kombinasi hormon yang telah digunakan di dalam kajian ini :

22. MS tanpa hormon
23. MS + 1.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA
24. MS + 1.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA
25. MS + 1.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA
26. MS + 1.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA
27. MS + 1.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA
28. MS + 2.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA
29. MS + 2.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA
30. MS + 2.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA
31. MS + 2.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA
32. MS + 2.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA
33. MS + 3.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA
34. MS + 3.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA
35. MS + 3.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA
36. MS + 3.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA
37. MS + 3.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA
38. MS + 4.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA
39. MS + 4.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA
40. MS + 4.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA
41. MS + 4.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA

42. MS + 4.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA
43. MS + 5.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA
44. MS + 5.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA
45. MS + 5.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA

6.2.5 Penentuan Kombinasi Hormon Untuk Pembentukan Pucuk

Sebanyak 13 perlakuan telah digunakan untuk mendapatkan inisiasi pucuk berdasarkan kajian dan perhatian pada bahagian 6.1 dan 6.2.4. Untuk bahagian ini hanya eksplan tunas sisi sahaja yang digunakan kerana eksplan lain tidak menunjukkan sebarang respons untuk membentuk organogenesis. Kombinasi hormon yang telah digunakan adalah seperti berikut :

17. MS tanpa hormon
18. MS + 1.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA
19. MS + 1.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA
20. MS + 1.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA
21. MS + 2.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA
22. MS + 2.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA
23. MS + 2.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA
24. MS + 3.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA
25. MS + 3.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA
26. MS + 3.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA
27. MS + 1.0 mg/l BAP
28. MS + 2.0 mg/l BAP
29. MS + 3.0 mg/l BAP

6.2.6 Penentuan Kombinasi Hormon Untuk Pembentukan Akar

Sebanyak 6 perlakuan telah digunakan untuk mendapatkan inisiasi akar berdasarkan kajian dan pemerhatian pada bahagian 6.1. Untuk bahagian ini pucuk yang terbentuk dari eksplan tunas sisi sahaja yang telah digunakan untuk proses pembentukan akar. Kombinasi hormon yang telah digunakan adalah seperti berikut :

1. MS tanpa hormon
2. MS + 1.0 mg/l NAA
3. MS + 2.0 mg/l NAA
4. MS + 3.0 mg/l NAA
5. MS + 4.0 mg/l NAA
6. MS + 5.0 mg/l NAA

6.3 KEPUTUSAN

6.3.1 Kombinasi Hormon BAP dan NAA yang Terbaik Untuk Pembentukan Kalus

Kesemua kombinasi hormon BAP (1.0-5.0 mg/l) dan NAA (1.0-5.0 mg/l) yang menggunakan eksplan daun, batang dan petiol berupaya menginduksikan kalus walaupun tidak berpotensi untuk menghasilkan pucuk atau akar. Pada media MS tanpa hormon sahaja didapati tiada sebarang perubahan berlaku di mana kesemua eksplan mati dan berwarna hitam selepas minggu keempat (Jadual 6.1).

Secara keseluruhannya kalus mula kelihatan pada hari ke 7 hingga 14. Kalus mula terbentuk pada permukaan eksplan yang terluka atau terpotong. Dari rajah 6.4 didapati eksplan daun adalah yang paling responsif dan terbaik dalam penghasilan kalus, diikuti oleh eksplan batang dan petiol. Kalus yang terhasil terdiri dari pelbagai warna dan tekstur. Secara amnya kepekatan 1.0 - 2.0 mg/l BAP yang telah ditambah dengan 1.0 – 5.0 mg/l NAA boleh menghasilkan kalus yang berwarna kuning kehijauan serta rapuh. Manakala kepekatan 3.0 - 5.0 mg/l BAP dan 1.0 – 5.0 mg/l NAA dapat menghasilkan kalus yang berwarna putih kekuningan serta keras (Jadual 6.1 dan Plat 6.1-6.10).

Bagi purata berat segar kalus pula didapati eksplan daun boleh memberikan pembentukan kalus yang paling banyak. Ini diikuti dengan eksplan batang dan petiol. Dari rajah 6.1 didapati purata berat segar kalus eksplan daun yang tertinggi adalah pada kombinasi 3.0 mg/l BAP dan 2.0 mg/l NAA iaitu 1.13g

(Jadual 6.1 dan Plat 6.1-6.4). Purata berat segar kalus didapati semakin bertambah dengan meningkatnya kepekatan 1.0mg/l BAP dan 1.0mg/l NAA kepada 3.0mg/l BAP dan 4.0mg/l NAA. Selepas daripada kepekatan di atas sehingga kepekatan 5.0mg/l BAP dan 3.0mg/l NAA, didapati purata berat segar kalus semakin berkurangan. Titik optima untuk penghasilan kalus yang terbanyak dan terbaik adalah pada kepekatan 3.0mg/l BAP dan 2.0mg/l NAA dengan menggunakan eksplan daun.

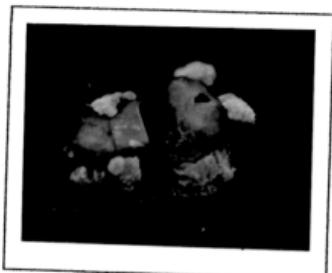
Untuk eksplan batang pula purata berat kalus yang tertinggi didapati pada kombinasi hormon 2.0mg/l BAP dan 4.0mg/l NAA iaitu 0.77g (Jadual 6.1 dan Plat 6.5-6.8). Pembentukan kalus didapati lebih lambat bagi eksplan batang iaitu pada hari ke 10-14. Daripada rajah 6.2 didapati berat segar kalus semakin bertambah dengan meningkatnya kepekatan 2.0mg/l BAP dan 3.0mg/l NAA kepada 5.0mg/l BAP dan 3.0mg/l NAA.

Eksplan petiol pula didapati adalah yang paling tidak responsif untuk penghasilan kalus. Purata berat segar kalus yang tertinggi didapati pada kombinasi hormon 1.0mg/l BAP dan 3.0mg/l NAA iaitu 0.52g (Jadual 6.1 dan Plat 6.9-6.10). Dari rajah 6.3 pula didapati selepas titik optima 1.0mg/l BAP dan 3.0mg/l NAA, berat kalus semakin berkurangan. Berat kalus kembali meningkat selepas 3.0mg/l BAP dengan 1.0mg/l NAA serta 4.0mg/l BAP dengan 1.0mg/l NAA ditambah ke dalam media MS. Pada 5.0mg/l BAP dan 2.0-3.0mg/l NAA, eksplan petiol didapati tidak menunjukkan sebarang perubahan dan malahan mati selepas minggu keempat.

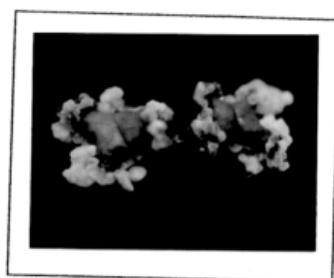
Jadual 6.1 : Respons yang dapat ditunjukkan oleh eksplan daun, batang dan petiol *Rosa hybrida* L. 'Christian Dior' terhadap kombinasi hormon BAP dan NAA yang telah dikultur di bawah keadaan 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Media asas ialah MS (1962).

PERLAKUAN		EKSPPLAN	PEMERHATIAN	PURATA BERAT SEGAR KALUS (g)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1.0	1.0	Daun	Kalus putih kekuningan dan rapuh	0.49
		Batang	Kalus kuning kehijauan dan keras	0.39
		Petiol	Kalus putih keperangan dan rapuh	0.32
	2.0	Daun	Kalus putih kekuningan dan rapuh	0.62
		Batang	Kalus putih kekuningan dan keras	0.36
		Petiol	Kalus putih kekuningan dan rapuh	0.27
	3.0	Daun	Kalus putih kehijauan dan keras	0.60
		Batang	Kalus putih kehijauan dan keras	0.49
		Petiol	Kalus putih kehijauan dan rapuh	0.52
	4.0	Daun	Kalus kehijauan dan keras	0.52
		Batang	Kalus kehijauan dan keras	0.47
		Petiol	Kalus kehijauan dan keras	0.16
	5.0	Daun	Kalus kekuningan dan keras	0.56
		Batang	Kalus putih kehijauan dan keras	0.42
		Petiol	Kalus putih kehijauan dan keras	0.43
2.0	1.0	Daun	Kalus hijau kekuningan dan rapuh	0.55
		Batang	Kalus kuning keperangan dan keras	0.42
		Petiol	Kalus kekuningan dan rapuh	0.20
	2.0	Daun	Kalus kekuningan dan rapuh	0.66
		Batang	Kalus kekuningan dan rapuh	0.39
		Petiol	Kalus kekuningan dan rapuh	0.38
	3.0	Daun	Kalus kekuningan dan rapuh	0.74
		Batang	Kalus kekuningan dan rapuh	0.20
		Petiol	Kalus kekuningan dan rapuh	0.32
	4.0	Daun	Kalus kekuningan dan rapuh	0.59
		Batang	Kalus kekuningan dan rapuh	0.77
		Petiol	Kalus kekuningan dan rapuh	0.25
	5.0	Daun	Kalus putih kekuningan dan keras	0.50
		Batang	Kalus putih kekuningan dan keras	0.43
		Petiol	Kalus kekuningan dan rapuh	0.34

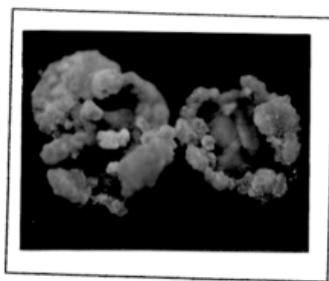
PERLAKUAN		EKSPLAN	PEMERHATIAN	PURATA BERAT SEGAR KALUS (g)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
3.0	1.0	Daun Batang Petiol	Kalus kehijauan dan keras Kalus kehijauan dan keras Kalus kehijauan dan keras	0.72 0.12 0.12
	2.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	1.13 0.71 0.32
	3.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	0.63 0.46 0.38
	4.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	0.88 0.64 0.38
	5.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	0.71 0.60 0.43
	1.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	0.45 0.22 0.03
	2.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	0.69 0.50 0.05
	3.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	0.47 0.39 0.20
	4.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	0.66 0.46 0.33
	5.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	0.71 0.50 0.38
	1.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	0.61 0.56 0.34
	2.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	0.60 0.65 0.0
	3.0	Daun Batang Petiol	Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras Kalus putih kekuningan dan keras	0.54 0.47 0.0
Tanpa hormon (MSO)		Daun Batang Petiol	Kesemua eksplan mati dan bertukar warna menjadi hitam selepas 4 minggu	- - -



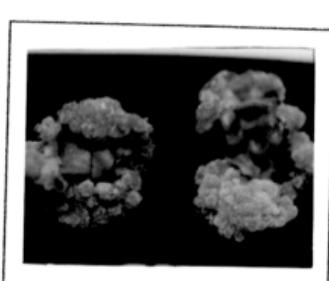
(a) 1.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA



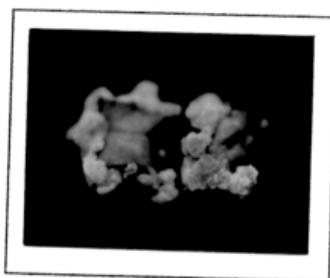
(b) 1.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



(c) 1.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA



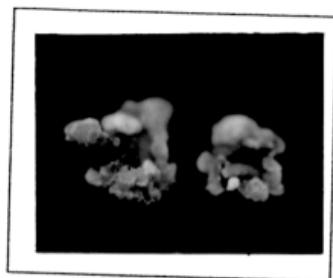
(d) 1.0mg/l BAP + 4.0mg/l NAA



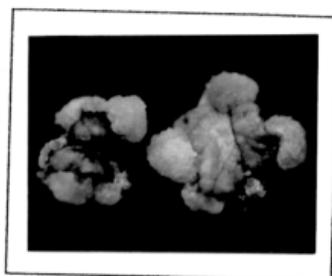
(e) 1.0mg/l BAP + 5.0mg/l NAA

($\overrightarrow{0.5\text{cm}}$, 10x)

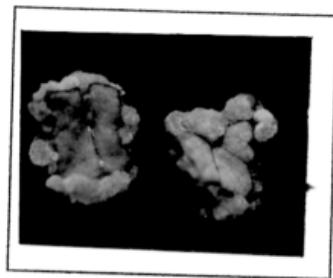
Plat 6.1 : Pembentukan kalus daripada eksplan daun *R. hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA.



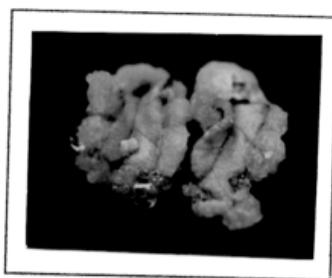
(a) 2.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA



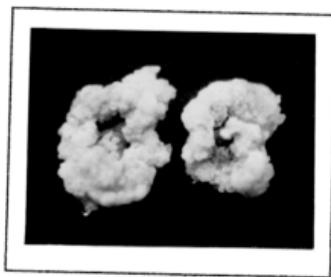
(b) 2.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



(c) 2.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA

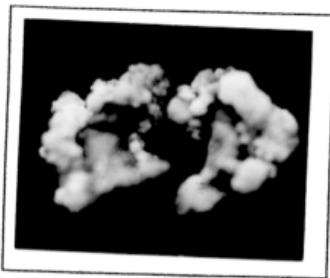


(d) 2.0mg/l BAP + 4.0mg/l NAA

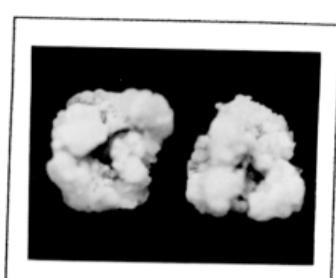


(e) 2.0mg/l BAP + 5.0mg/l NAA (0.5cm , 10x)

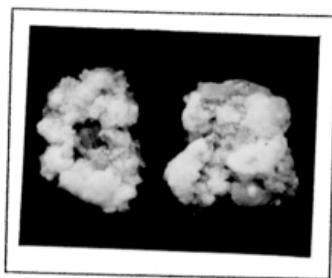
Plat 6.2 : Pembentukan kalus daripada eksplan daun *R. hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA.



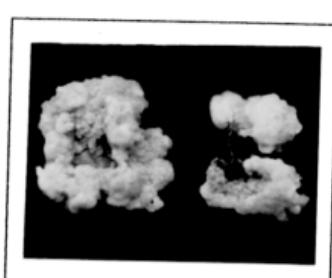
(a) 3.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA



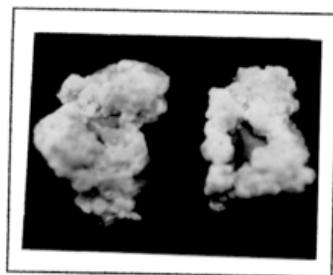
(b) 3.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



(c) 3.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA

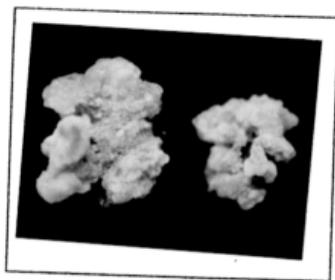


(d) 3.0mg/l BAP + 4.0mg/l NAA



(e) 3.0mg/l BAP + 5.0mg/l NAA (0.5cm , 10x)

Plat 6.3 : Pembentukan kalus daripada eksplan daun *R. hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA.



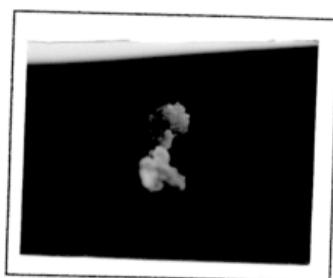
(a) 4.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



(b) 4.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA



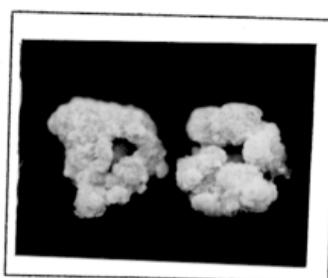
(c) 4.0mg/l BAP + 4.0mg/l NAA



(d) 5.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA



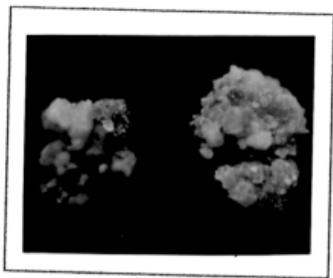
(e) 5.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



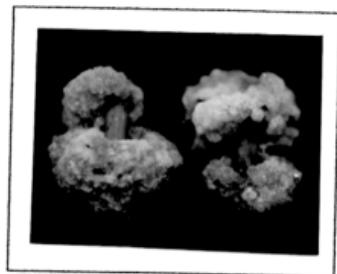
(f) 5.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA

(0.5cm , 10x)

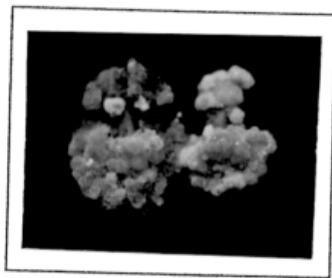
Plat 6.4 : Pembentukan kalus daripada eksplan daun *R. hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA.



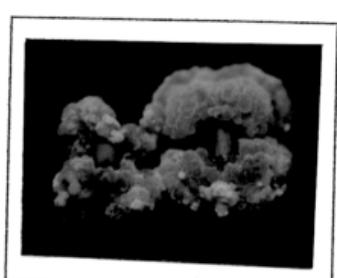
(a) 1.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA



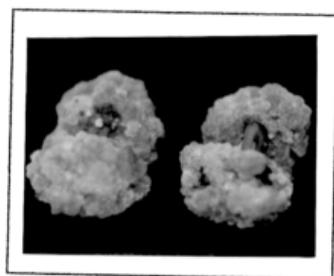
(b) 1.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



(c) 1.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA



(d) 1.0mg/l BAP + 4.0mg/l NAA



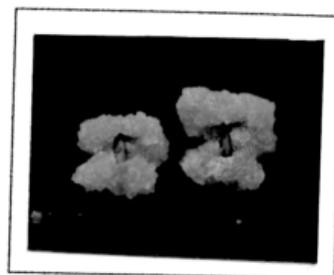
(e) 1.0mg/l BAP + 5.0mg/l NAA

($\sqrt{0.5\text{cm}}$, 10x)

Plat 6.5 : Pembentukan kalus daripada eksplan batang *R. hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA.



(a) 2.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA



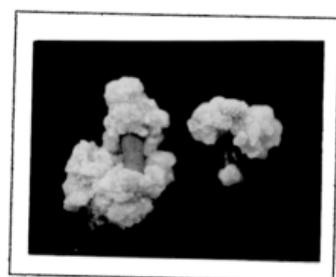
(b) 2.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



(c) 2.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA



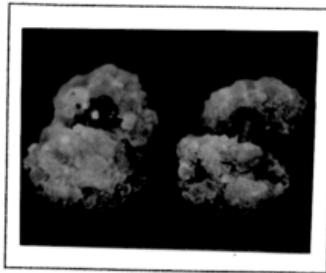
(d) 2.0mg/l BAP + 4.0mg/l NAA



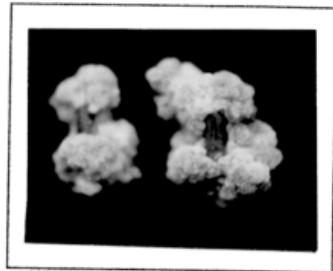
(e) 2.0mg/l BAP + 5.0mg/l NAA

($\overline{0.5\text{cm}}$, 10x)

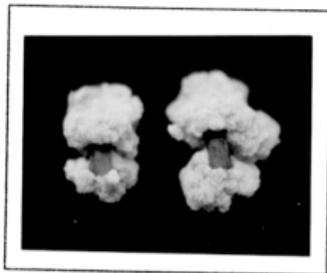
Plat 6.6 : Pembentukan kalus daripada eksplan batang *R. hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA.



(a) 3.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA



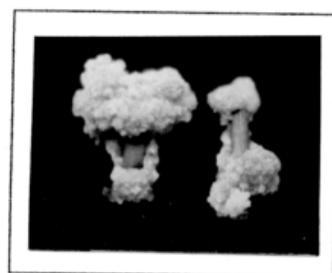
(b) 3.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



(c) 3.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA



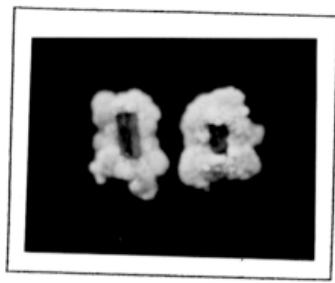
(d) 3.0mg/l BAP + 4.0mg/l NAA



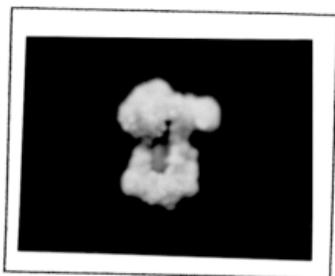
(e) 3.0mg/l BAP + 5.0mg/l NAA

(0.5cm , 10x)

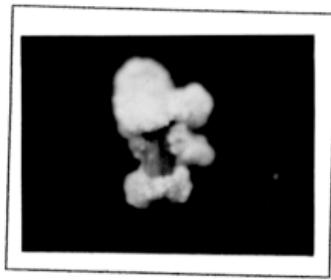
Plat 6.7 : Pembentukan kalus daripada eksplan batang *R. hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA.



(a) 4.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



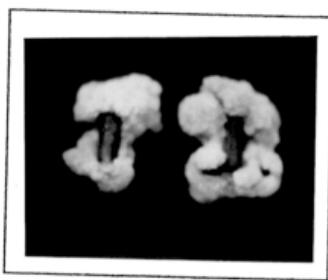
(b) 4.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA



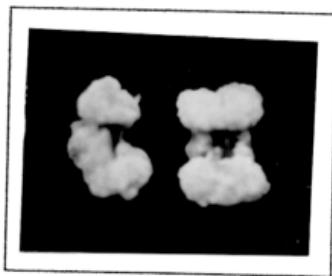
(c) 4.0mg/l BAP + 4.0mg/l NAA



(d) 4.0mg/l BAP + 5.0mg/l NAA



(e) 5.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



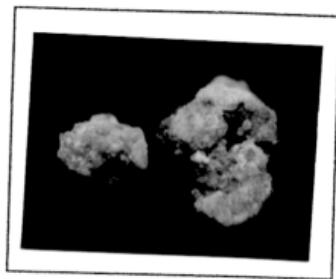
(f) 5.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA

(0.5cm , 10x)

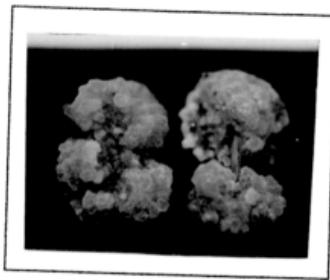
Plat 6.8 : Pembentukan kalus daripada eksplan batang *R. hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA.



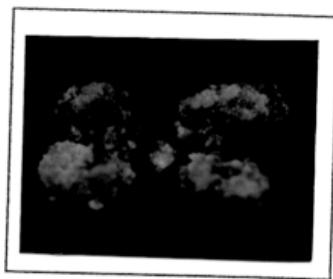
(a) 1.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA



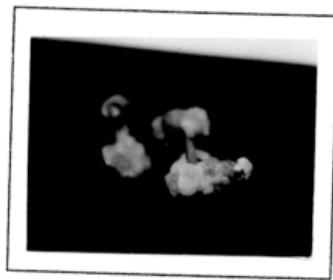
(b) 1.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



(c) 1.0mg/l BAP + 4.0mg/l NAA



(d) 1.0mg/l BAP + 5.0mg/l NAA



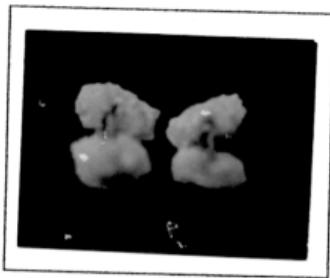
(e) 2.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA



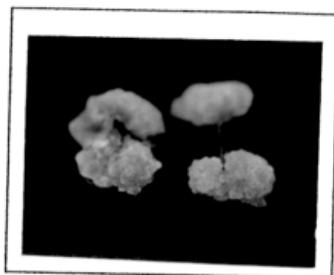
(f) 2.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA

(0.5cm , 10x)

Plat 6.9 : Pembentukan kalus daripada eksplan petiol *R. hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA.



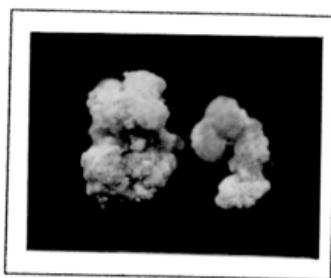
(a) 2.0mg/l BAP + 4.0mg/l NAA



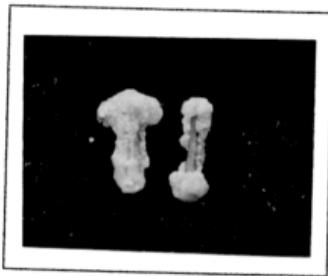
(b) 2.0mg/l BAP + 5.0mg/l NAA



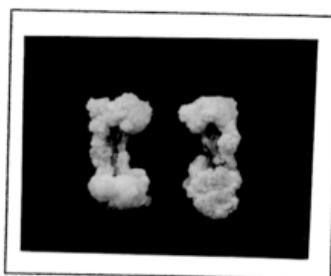
(c) 3.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA



(d) 3.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA



(e) 3.0mg/l BAP + 4.0mg/l NAA

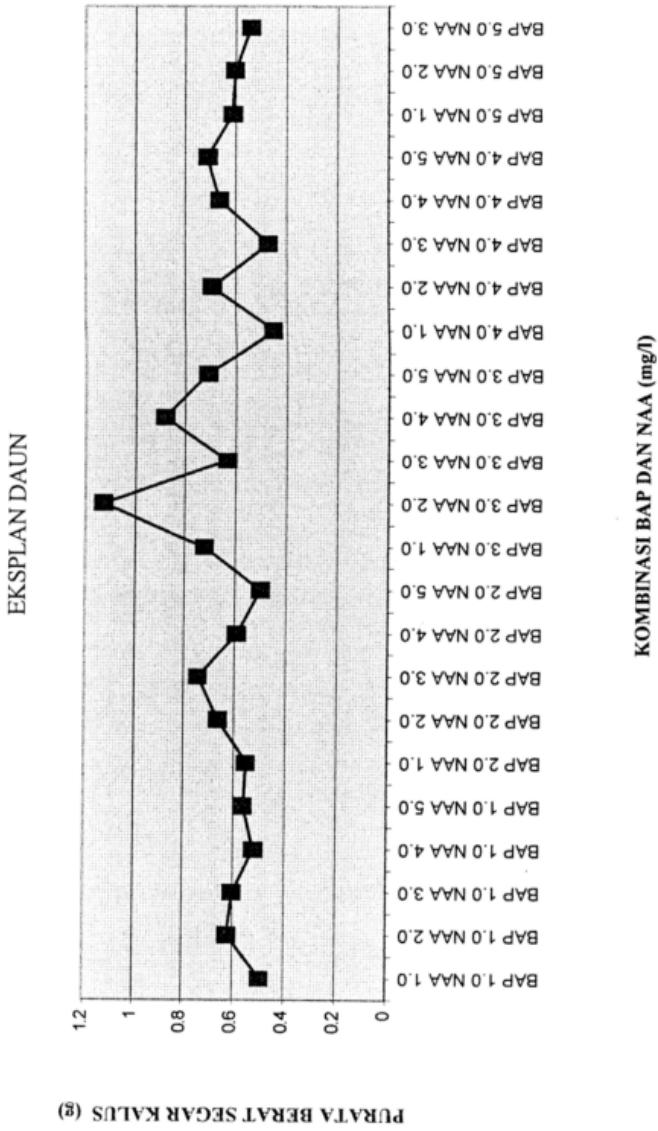


(f) 3.0mg/l BAP + 5.0mg/l NAA

($\overline{0.5\text{cm}}$, 10x)

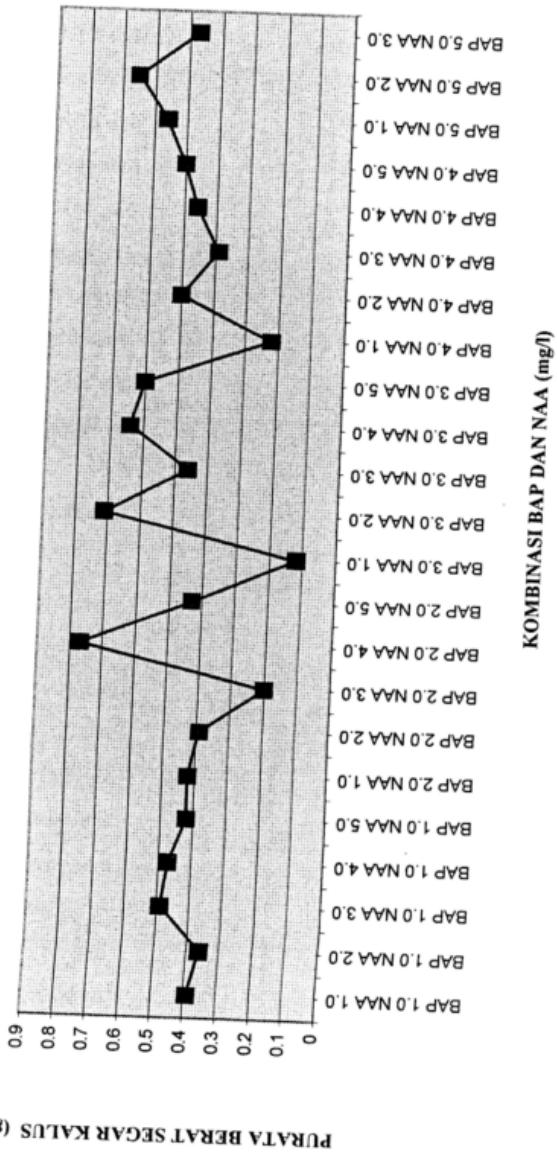
Plat 6.10 : Pembentukan kalus daripada eksplan petiol *R. hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA.

Rajah 6.1 : Purata berat segar kalus bagi eksplan daun *Rosa hybrida* L. var. 'Christian Dior' di atas media MS dengan pelbagai kombinasi BAP dan NAA di bawah keadaan 16 jam cahaya dan 8 jam gelap pada suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$



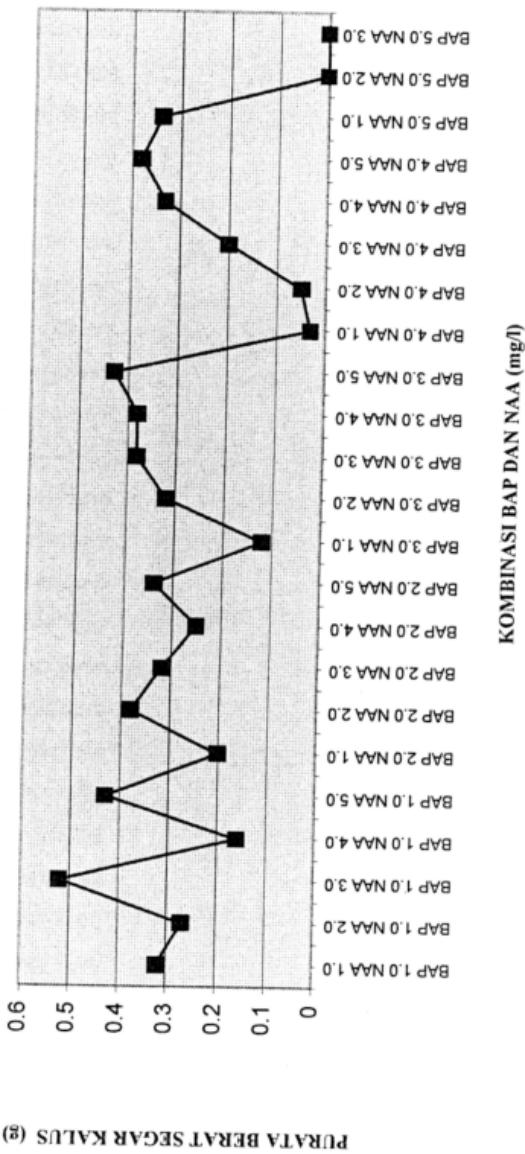
Rajah 6.2 : Purata berat segar kalus bagi eksplan batang *Rosa hybrida* L. var. 'Christian Dior' di atas media MS dengan pelbagai kombinasi BAP dan NAA di bawah keadaan 16 jam cahaya dan 8 jam gelap pada suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$

EKSPLAN BATANG

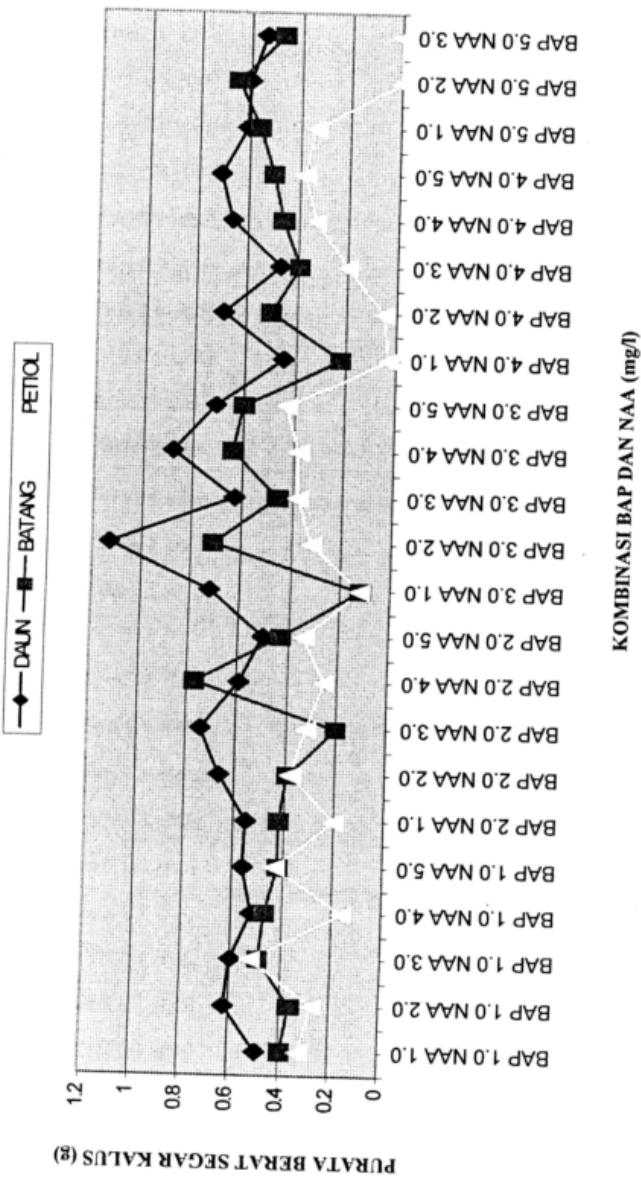


Rajah 6.3 : Purata berat segar kalus bagi eksplan petiol *Rosa hybrida* L. var. 'Christian Dior' yang dikultur di atas media MS dengan pelbagai kombinasi BAP dan NAA di bawah keadaan 16 jam cahaya dan 8 jam gelap pada suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$

EKSPLAN PETIOL



Rajah 6.4 : Purata berat segar kalus bagi keseluruhan eksplan *Rosa hybrida* L. var. 'Christian Dior' yang dikultur di atas media MS dengan pelbagai kombinasi BAP dan NAA di bawah keadaan 16 jam cahaya dan 8 jam gelap pada suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$



6.3.2 Kombinasi Hormon BAP dan NAA Untuk Pembentukan Pucuk

Di dalam kajian untuk mendapatkan media MS dengan kombinasi hormon BAP dan NAA yang terbaik untuk induksi pucuk, hanya eksplan tunas sisi sahaja yang telah digunakan. Ini kerana berdasarkan keputusan dan pemerhatian dari jadual 6.1 didapati kesemua eksplan lain yang digunakan tidak berupaya untuk menghasilkan pucuk dan akar. Kalus yang terhasil dari eksplan-eksplan tersebut juga didapati tidak berupaya untuk membentuk pucuk, akar atau embriogenesis somatik.

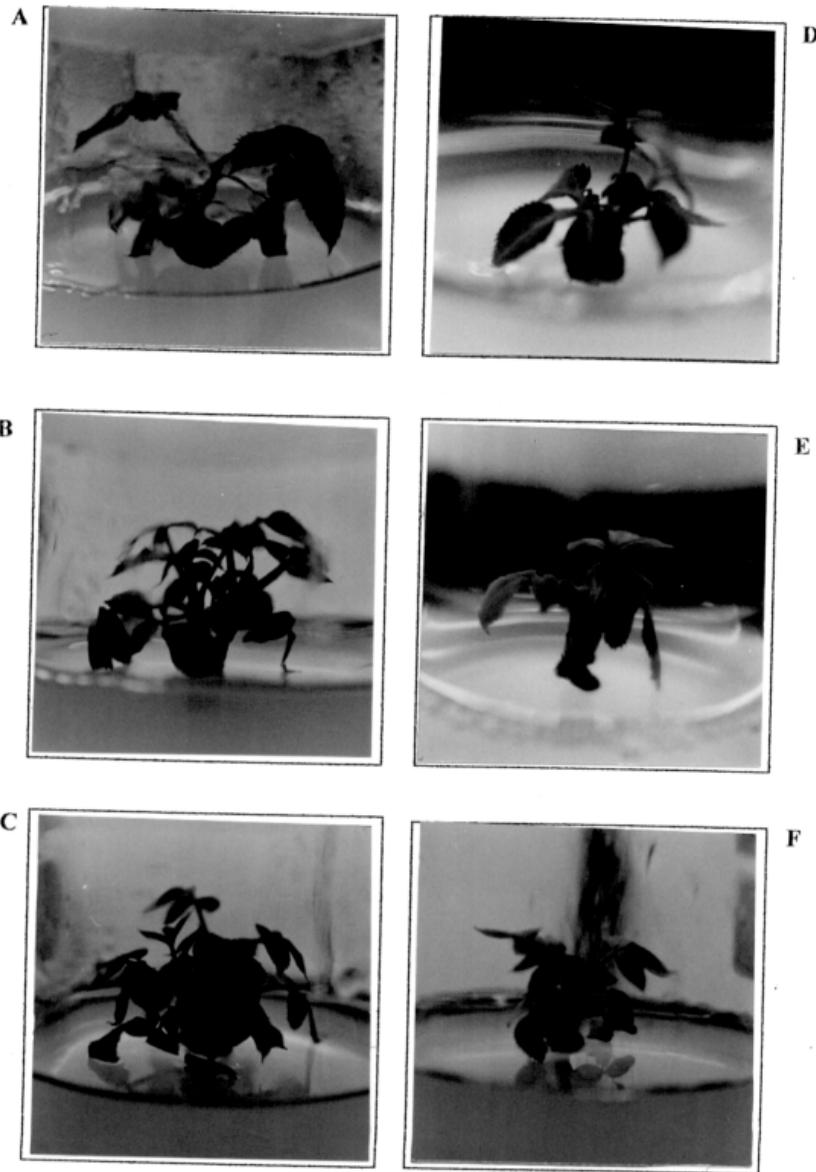
Kesemua 13 perlakuan yang digunakan iaitu kombinasi hormon BAP (1.0-3.0mg/l) dan NAA (1.0-3.0mg/l) didapati berjaya menghasilkan pucuk kecuali pada media MS tanpa hormon (Jadual 6.2 dan Plat 6.11-6.12). Media yang terbaik untuk induksi pucuk didapati pada media MS yang telah ditambah dengan 3.0mg/l BAP dengan purata bilangan pucuk sebanyak 3.4 ± 0.70 . Daripada jadual 6.2 didapati pucuk mula terbentuk 2-3 minggu selepas dikultur. Penghasilan purata bilangan pucuk didapati semakin meningkat apabila nisbah BAP:NAA melebihi dari nilai 1.0 atau kepekatan BAP melebihi kepekatan NAA. Pembentukan kalus kekuningan dan keras didapati berlaku selepas pembentukan pucuk pada 2.0mg/l BAP yang ditambah dengan 3.0mg/l NAA dan 3.0mg/l BAP yang ditambah dengan 3.0mg/l NAA.

Pada kepekatan hormon serta kombinasi BAP dan NAA yang lain dari 2.0mg/l BAP yang ditambah dengan 3.0mg/l NAA dan 3.0mg/l BAP yang ditambah dengan 3.0mg/l NAA tiada pembentukan kalus berlaku. Pucuk yang

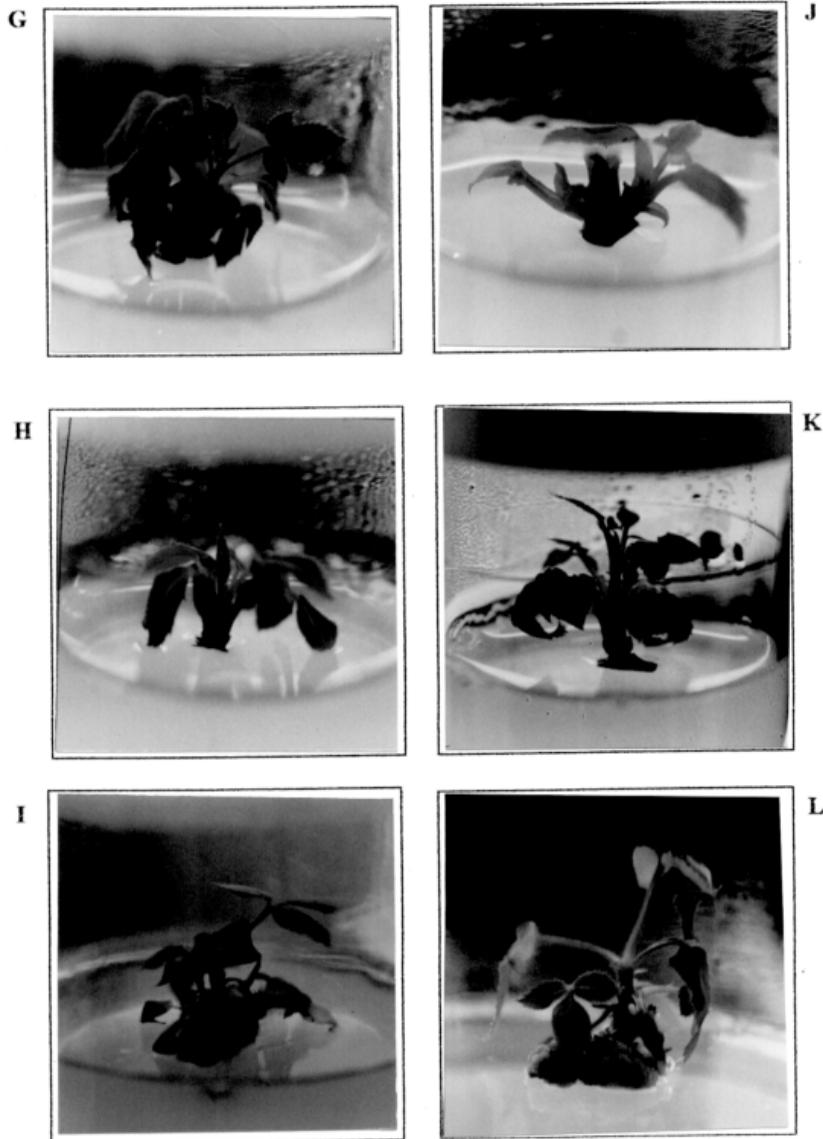
terhasil perlu disubkultur setiap 4 minggu untuk mengelakkannya daripada mati. Pucuk berganda yang terhasil apabila dipisahkan kepada individu berupaya untuk membentuk pucuk berganda kembali apabila dipindahkan kepada media yang baru terutama pada media yang mempunyai kepekatan BAP yang tinggi iaitu 3.0mg/l.

Jadual 6.2 : Respons yang ditunjukkan oleh eksplan tunas sisi *Rosa hybrida* L. 'Christian Dior' terhadap kombinasi hormon BAP dan NAA yang telah dikultur di bawah keadaan 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$ untuk inisiasi pucuk. Media asas ialah MS (1962).

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	BAP : NAA ($\mu\text{mol/l}$)	SUMBER EKSPPLAN	PURATA BILANGAN PUCUK	KALUS (%)	PEMERHATIAN
Tanpa hormon (MSO)		0.0 : 0.0	Tunas sisi	0.0 ± 0.0	-	Eksplan mati selepas 4 minggu
1.0	-	1.0 : 0.0	Tunas sisi	1.2 ± 0.42	-	Pucuk terbentuk selepas 3 minggu
2.0	-	2.0 : 0.0	Tunas sisi	2.3 ± 0.48	-	Pucuk terbentuk selepas 2 minggu
3.0	-	3.0 : 0.0	Tunas sisi	3.4 ± 0.70	-	Pucuk terbentuk selepas 2 minggu
1.0	1.0	0.83 : 1.0	Tunas sisi	1.3 ± 0.48	-	Pucuk terbentuk selepas 3 minggu
1.0	2.0	0.41 : 1.0	Tunas sisi	1.5 ± 0.71	-	Pucuk terbentuk selepas 3 minggu
1.0	3.0	0.28 : 1.0	Tunas sisi	1.3 ± 0.48	-	Pucuk terbentuk selepas 3 minggu
2.0	1.0	1.65 : 1.0	Tunas sisi	2.2 ± 0.63	-	Pucuk terbentuk selepas 2 minggu
2.0	2.0	0.83 : 1.0	Tunas sisi	1.3 ± 0.48	-	Pucuk terbentuk selepas 3 minggu
2.0	3.0	0.55 : 1.0	Tunas sisi	1.2 ± 0.42	40	Kalus dan pucuk terbentuk selepas 4 minggu
3.0	1.0	2.48 : 1.0	Tunas sisi	2.4 ± 0.52	-	Pucuk terbentuk selepas 2 minggu
3.0	2.0	1.24 : 1.0	Tunas sisi	2.0 ± 0.67	-	Pucuk terbentuk selepas 3 minggu
3.0	3.0	0.83 : 1.0	Tunas sisi	1.1 ± 0.32	100	Kalus dan pucuk terbentuk selepas 5 minggu



Plat 6.11 : Pembentukan pucuk daripada eksplan tunas sisi *R. hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA, A)1.0mg/l BAP, B)2.0mg/l BAP, C)3.0mg/l BAP, D)1.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA, E)1.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA, F)1.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA.



($\sqrt{0.5\text{cm}}$, 10x)

Plat 6.12 : Pembentukan pucuk daripada eksplan tunas sisi *R. Hybrida* selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA G)2.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA, H)2.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA, I)2.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA, J)3.0mg/l BAP + 1.0mg/l NAA, K)3.0mg/l BAP + 2.0mg/l NAA, L)3.0mg/l BAP + 3.0mg/l NAA.

6.3.3 Pembentukan Akar

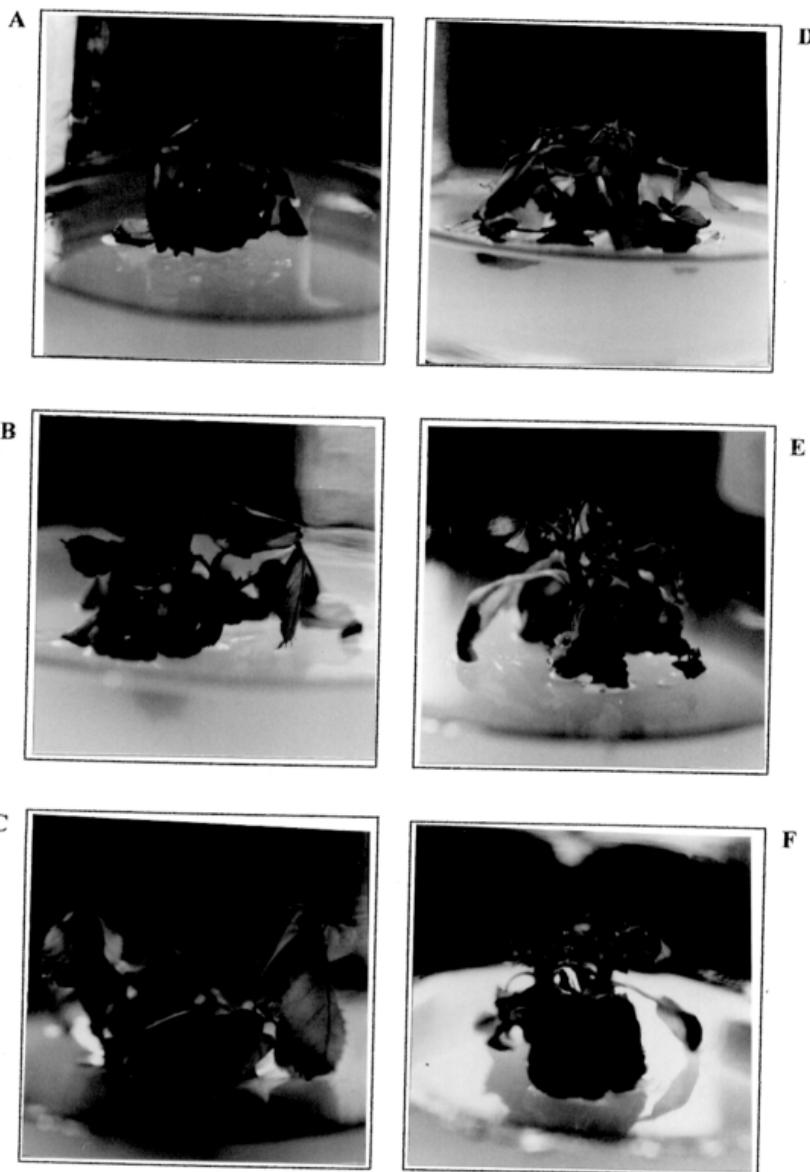
Sebanyak 5 kepekatan berlainan hormon NAA dan MS tanpa hormon sebagai kawalan telah digunakan untuk melihat pembentukan akar (Jadual 6.3 dan Plat 6.13). Pucuk berganda yang diperolehi dari bahagian 6.3.2 telah digunakan sebagai sumber eksplan.

Berdasarkan kepada jadual 6.3 dan plat 6.13, didapati kesemua perlakuan yang telah digunakan tidak berupaya untuk menghasilkan akar. Pada media kawalan iaitu media MS tanpa hormon, pucuk berganda mati selepas 4 minggu dikultur. Keadaan yang sama juga berlaku pada kepekatan 1.0 – 5.0mg/l NAA. Pembentukan kalus didapati berlaku selepas minggu keempat pada kepekatan 3.0 – 5.0mg/l NAA.

Dengan ini, eksplan tunas sisi dengan pucuk berganda didapati tidak berupaya untuk membentuk akar walaupun dibiarkan selama 12 minggu di dalam kultur. Kajian untuk proses pembentukan akar telah dihentikan sehingga setakat ini sahaja kerana ia didapati tidak praktikal untuk diteruskan.

Jadual 6.3 : Respons yang ditunjukkan oleh pucuk berganda *Rosa hybrida* L. 'Christian Dior' terhadap NAA yang telah dikultur di bawah keadaan 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ untuk inisiasi akar. Media asas ialah MS (1962).

NAA (mg/l)	SUMBER EKSPLAN	AKAR (%)	KALUS (%)	PEMERHATIAN
MSO	Pucuk berganda	0.0	0.0	Pucuk berganda mati selepas 3 minggu. Tiada pembentukan akar berlaku.
1.0	Pucuk berganda	0.0	0.0	Pucuk berganda mati selepas 3 minggu. Tiada pembentukan akar berlaku.
2.0	Pucuk berganda	0.0	0.0	Pucuk berganda mati selepas 3 minggu. Tiada pembentukan akar berlaku.
3.0	Pucuk berganda	0.0	100	Pucuk berganda mati selepas 4 minggu dan membentuk kalus. Tiada pembentukan akar berlaku.
4.0	Pucuk berganda	0.0	100	Pucuk berganda mati selepas 4 minggu dan membentuk kalus. Tiada pembentukan akar berlaku.
5.0	Pucuk berganda	0.0	100	Pucuk berganda mati selepas 4 minggu dan membentuk kalus. Tiada pembentukan akar berlaku.



($\overline{0.5\text{cm}}$, 10x)

Plat 6.13 : Kesan pelbagai kepekatan NAA untuk penghasilan akar terhadap eksplan pucuk selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan A) Tanpa hormon B) 1.0mg/l NAA C) 2.0mg/l NAA D) 3.0mg/l NAA E) 4.0mg/l NAA F) 5.0mg/l NAA.

6.4 RINGKASAN KEPUTUSAN

1. Daun yang muda merupakan eksplan yang terbaik dan paling responsif untuk penghasilan kalus yang terpantas iaitu selepas 5 hari. Ini diikuti oleh eksplan batang dan petiol iaitu selepas 7 hari.
2. Medium MS yang telah ditambah dengan 3.0mg/l BAP dan 2.0mg/l NAA adalah kombinasi hormon yang terbaik untuk penghasilan purata berat segar kalus yang tertinggi bagi eksplan daun iaitu 1.13g.
3. Medium MS yang telah ditambah dengan 2.0mg/l BAP dan 4.0mg/l NAA adalah kombinasi hormon yang terbaik untuk penghasilan purata berat segar kalus yang tertinggi bagi eksplan batang iaitu 0.77g.
4. Medium MS yang telah ditambah dengan 1.0mg/l BAP dan 3.0mg/l NAA adalah kombinasi hormon yang terbaik untuk penghasilan purata berat kalus yang tertinggi bagi eksplan petiol iaitu 0.52g.
5. Media yang terbaik untuk induksi pucuk didapati pada media MS yang telah ditambah dengan 3.0mg/l BAP dengan purata bilangan pucuk sebanyak 3.4 ± 0.70 dan berjulat di antara 1 hingga 7 pucuk.
6. Kesemua perlakuan NAA pada kepekatan 1.0 – 5.0mg/l didapati tidak berupaya untuk menghasilkan akar daripada eksplan pucuk berganda.
7. Hanya eksplan tunas sisi sahaja didapati berjaya menghasilkan pucuk berganda. Manakala eksplan daun, batang dan petiol didapati tidak berupaya untuk menghasilkan pucuk dan akar.