

## PENGARUH KOMPOSISI MEDIA PADA PERBANYAKAN *Medinilla beamanii* SECARA IN VITRO

Ismaini L

Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya-LIPI  
Jl. Kebun Raya Cibodas, Cipanas, Cianjur Jawa Barat

\*Email: lily.ismaini@yahoo.com

### Abstrak

*Medinilla beamanii* termasuk kedalam famili Melastomataceae, tanaman ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman hias. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh media kultur terhadap pertumbuhan *M. beamanii* secara in vitro. Biji *M. beamanii* dikultur pada media MS, MS+arang aktif 1 g/L dan 1/2WPM+arang aktif 1 g/L. Selanjutnya, untuk perbanyak tunas, dipilih eksplan hipokotil dengan kotiledon dari biji yang berkecambah. Media yang digunakan adalah Media MS, 1/2 MS, WPM, 1/2 WPM dengan penambahan kombinasi zat pengatur tumbuh 6-Benzylaminopurine (1 dan 2 mg / L dan Naphtalene Acetic Acid (NAA) 0,1 mg/L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase perkecambahan biji tertinggi diperoleh dengan menggunakan media MS dan 1/2 WPM+arang aktif 1 g/L pada 5 minggu setelah kultur (96,96 dan 100%). Untuk perbanyak tunas, media MS+BAP 2 mg/L+0,1 mg/L NAA (Media 2) menunjukkan jumlah tunas tertinggi yaitu 8 tunas per eksplan, jumlah daun tertinggi diperoleh pada media MS+BAP 1 mg/L+0,1 mg/L NAA yaitu 7 daun per eksplan, dan tinggi tunas tertinggi pada Media 1/2 WPM+BAP 2 mg/L+0,1 mg/L NAA adalah 0,80 cm. Media aklimatisasi terbaik adalah media pakis dengan persentase hidup 81,8%.

**Kata kunci:** hipokotil, k

otiledon, in vitro. *Medinilla beamanii*, 6-Benzylaminopurine

## 1. PENDAHULUAN

*Medinilla* merupakan genus kedua terbesar pada famili Melastomataceae, mencapai 375 sampai 400 spesies (Mabberley, 2008; Willis, 1973). Keanekaragaman genus *Medinilla* tertinggi terdapat di Afrika dan Asia. Sebagian besar distribusi *Medinilla* di Asia tersebar di kawasan Malesiana (Regalado, 1990), diantaranya 80 spesies di Filipina (Regalado, 1995), 48 di Borneo (Regalado, 1990), 25 di Sumatra (van den Brink Bakhuizen, 1945), 16 di Sulawesi (van den Brink Bakhuizen, 1945), 15 di Malaysia (Maxwell, 1978), dan 13 di Jawa (van den Brink Bakhuizen, 1945). Sebagian besar genus *Medinilla* memiliki potensi sebagai tanaman hias, ini didukung oleh bentuk daun dan bunga yang menarik. Beberapa jenis yang telah dikembangkan sebagai tanaman hias di daerah tropis dan subtropis antara lain *Medinilla crassata* Elmer, *Medinilla magnifica* Lindl., dan *Medinilla scortechinii* King (Rosario dan Mendoza, 1998; Wang dkk., 2015).

Tanaman *Medinilla* dapat diperbanyak dengan biji, dan stek, tetapi perbanyakan secara konvensional lebih lambat. Untuk meningkatkan potensinya sebagai tanaman hias diperlukan metode perbanyakan yang efisien dan lebih cepat. Teknik kultur jaringan tanaman memiliki banyak keunggulan dibandingkan perbanyakan vegetatif konvensional dan yang paling penting adalah perbanyakan sejumlah besar tanaman bebas patogen dan tingkat keseragamannya tinggi. Pada saat ini, kultur *in vitro* banyak digunakan untuk memperbanyak tanaman yang bernilai ekonomi (Al Mizory dan Mayi 2012). Ada beberapa penelitian yang berfokus pada mikropropagasi *Medinilla*, diantaranya penelitian *M. magnifica* dari jaringan epidermis, ujung akar dan pucuk, kultur ovarium *Medinilla formosana*, kultur ruas batang *M. mandrakensis*, kultur tunas axilar *M. micrantha* (Than Than Van dkk. 1978; Reinert dkk. 1977, Debergh dan Maene 1981; Wang dkk. 2015; Elinorovololona dkk. 2014). Menurut beberapa penelitian, *Medinilla* merupakan salah satu genera yang paling sulit untuk di kultur karena tingkat fenolnya tinggi sehingga menyebabkan pencoklatan yang parah, diantaranya pencoklatan terjadi karena kandungan fenol dan taninnya yang melimpah (Castele dkk. 1981; Wang dkk. 2015). Meskipun kerusakan akibat pencoklatan kadang-kadang dapat diatasi dengan suplemen media (karbon aktif, asam askorbat, polivinil pirolidon), hasilnya tidak selalu memuaskan terutama pada beberapa spesies yang mudah berwarna coklat (Lee dan Whitaker, 1995; Ahmad dkk. 2013).

Beberapa media yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah media dasar Murashige dan Skoog (MS), dan McCown Woody Plant Medium (WPM). Media dasar yang banyak digunakan dalam penelitian kultur *in vitro* *Medinilla* adalah media MS, diantaranya perbanyakan *Medinilla micrantha* yang menggunakan media MS dengan penambahan sitokinin dan auksin, *Medinilla formosana* menggunakan media  $\frac{1}{2}$  MS yang ditambah arang aktif dan zat pengatur tumbuh 6-benzyl adenin (BA) (Elinorovololona dkk. 2014; Wang dkk. 2015). Masih terbatasnya penelitian metode perbanyakan *M. beamanii* secara *in vitro*, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui komposisi media yang tepat untuk perbanyakan *medinilla* secara *in vitro*.



Gambar 1. A. *Medinilla beamanii*, B. Bunga, C. Buah

## 2. METODOLOGI

### 2.1. Germinasi biji

Buah *M. beamanii* dipanen dari tanaman koleksi di Kebun Raya Cibodas. Buah dicuci dengan air kran, kemudian bijinya diambil dengan saringan. Biji disterilisasi dengan cara dicuci bersih dengan larutan detergen selama 5 menit dan tween 80 selama 15 menit. Kemudian, direndam dalam larutan fungisida (Benlox) dan bakterisida (Agrept) selama 20 menit, lalu direndam dalam larutan NaOCl (Sunklin® 20%) selama 15 menit, etanol 70% selama 1 menit. Setiap tahap sterilisasi tersebut diikuti dengan pencucian dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Selanjutnya, biji dikultur pada botol kultur yang telah berisi media MS (Murashige dan Skoog 1962) tanpa arang aktif, MS+1 g/L arang aktif, 1/2WPM+1 g/L arang aktif. Setiap media diperkaya dengan 30 g/L sukrosa dan dipadatkan dengan agar-agar 6 g/L dan pH diatur menjadi 5,7. Percobaan diulang tiga kali. Kultur diinkubasi dalam kondisi terkontrol pada suhu  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 16:8 (terang:gelap). Pengamatan perkecambahan biji dilakukan pada minggu ke- 3, 4 dan 5 setelah kultur.

### 2.2. Perbanyak tunas

Sebanyak 10 jenis media digunakan sebagai perlakuan untuk multipilkasi tunas (Tabel 1). Eksplan yang digunakan adalah kecambah biji yang berumur 35 hari, dengan memotong bagian hipokotil dan kotiledon (5 mm). Eksplan tersebut ditanam pada media secara vertikal, Masing-masing perlakuan terdapat 7 ulangan. Kultur diinkubasi dalam kondisi terkontrol pada  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 16:8 (terang: gelap). Pengamatan pertumbuhan eksplan *M. beamanii* dilakukan pada bulan ke 4 setelah kultur. Parameter yang diamati antara lain jumlah tunas, jumlah daun dan tinggi tunas.

**Tabel 1. Media dan kombinasi zat pengatur tumbuh**

Medium	Basal media	Konsentrasi ZPT	
		BA (mg/L)	NAA (mg/L)
Media 1	MS	1	0.1
Media 2	MS	2	0.1
Media 3	½ MS	1	0.1
Media 4	½ MS	2	0.1
Media 5	WPM	1	0.1
Media 6	WPM	2	0.1
Media 7	½ WPM	1	0
Media 8	½ WPM	2	0
Media 9	½ WPM	1	0.1
Media 10	½ WPM	2	0.1

MS: Murashige Skoog; WPM; woody plant medium; BAP: 6-benzylaminopurine NAA: 2-Naphthalene Acid Acetic

### 2.3. Aklimatisasi

Planlet yang telah siap aklimatisasi dibersihkan dengan air mengalir selama 2-3 menit sampai bersih dari agar, lalu direndam dalam larutan fungisida selama 5 menit. Selanjut planlet ditanam pada media spagnum dan cacahan pakis yang telah disterilisasi, lalu ditutup dengan plastik untuk menjaga kelembaban. Pengamatan persentase hidup plantlet dilakukan dengan menghitung jumlah planlet yang berhasil tumbuh dengan baik setelah 4 minggu penanaman.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Germinasi biji

Setelah tiga minggu dikultur, biji berkecambah pada media perlakuan MS0+1/2WPM+1 g/L arang aktif dengan total persentase biji berkecambah berkisar antara 5,55% hingga 26,77%, tetapi tidak ada biji yang berkecambah pada media MS0+arang aktif 1 g/L. Sedangkan lima minggu setelah kultur menghasilkan respon yang bervariasi dimana persentase perkecambahan biji lebih tinggi pada media 1/2 WPM dan media MS0+ 1 g/L arang aktif yaitu 100% dan 96,96%, sementara itu pada media MS0 tanpa arang aktif hanya 38,89% (Tabel 2).

**Tabel 2. Persentase perkecambahan biji *M. beamanii***

Waktu germinasi (minggu)	Persentase biji berkecambah(%)		
	MS0	MS 0+ Arang aktif	½WPM+Arang aktif
3	26.77a	0.00a	5.55a
4	36.11ab	50.70b	44.83b
5	38.89b	96.96c	100.00c

\*) Angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada  $\alpha = 0,05$ .

Dari hasil penelitian tersebut, biji berkecambah pada semua media kultur dengan atau tanpa arang aktif, namun terdapat perbedaan nyata persentase perkecambahan biji setelah lima minggu dikulturkan pada media 1/2 WPM dan media MS0 dengan arang aktif 1 g/L. Media dengan arang aktif 1 g/L diduga dapat mendukung perkecambahan biji yang lebih besar (> 90%) dibandingkan dengan media tanpa arang aktif. Arang aktif yang ditambahkan ke dalam media kultur dapat berfungsi untuk menyerap senyawa-senyawa beracun yang mungkin dikeluarkan oleh tanaman yang dikulturkan atau senyawa-senyawa penghambat pertumbuhan yang dihasilkan oleh komponen media ketika diautoklaf dan membuat kondisi gelap yang merangsang pertumbuhan akar pada tanaman yang dikulturkan (Fridborg dkk. 1978; Weatherhead dkk., 1979; Bhadra dan Hossain, 2003). Hasil ini didukung oleh penelitian lain yang menunjukkan bahwa arang aktif memiliki peran penting dalam perkecambahan biji pada banyak spesies tanaman lainnya, Suranthran dkk. 2011 melaporkan bahwa *Elaeis guineensis* yang dikultur pada media yang ditambahkan 0,1 mg/L (NAA, BAP, GA3) dan 2 g/L arang aktif memiliki persentase pertumbuhan embrio tertinggi (97%), sama halnya dengan penelitian yang dilakukan Znaniecka dkk. (2005) melaporkan bahwa penambahan arang aktif pada media kultur menghasilkan persentase perkecambahan biji *Encyclia aff oncidoides* yang paling tinggi dan Shin dkk. (2011) menyatakan pengaruh nyata arang aktif terhadap peningkatan persentase perkecambahan biji *Calanthe* hibrida. Biji yang dikultur pada media dengan arang aktif tumbuh lebih kuat dibandingkan media tanpa perlakuan arang aktif (Gambar 2).



**Gambar 2. Biji *M. beamanii* 5 minggu setelah kultur A. MS 0; B. MS0+AA; C. 1/2WPM+AA**

### 3.2. Perbanyak tunas

Setelah 16 minggu kultur, eksplan tumbuh ditandai dengan terbentuknya tunas, daun, dan akar. Pengaruh dari media dan zat pengatur tumbuh dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Pengaruh komposisi media dengan penambahan hormon BAP dan NAA terhadap pertumbuhan *M. beamanii* setelah 16 minggu kultur.**

Media	Jumlah tunas	Jumlah daun	Tinggi tunas (cm)
Media 1	1.50a	7.00b	0.55a
Media 2	8.00d	5.75ab	0.65ab
Media 3	4.25bc	4.50a	0.65ab
Media 4	6.00cd	5.00a	0.65ab
Media 5	3.00ab	5.50a	0.60ab
Media 6	6.00cd	5.00a	0.72ab
Media 7	3.00ab	4.75a	0.55ab

Media 8	4.25bc	5.50a	0.70ab
Media 9	3.25ab	5.50a	0.65ab
Media 10	6.50cd	5.00a	0.80b

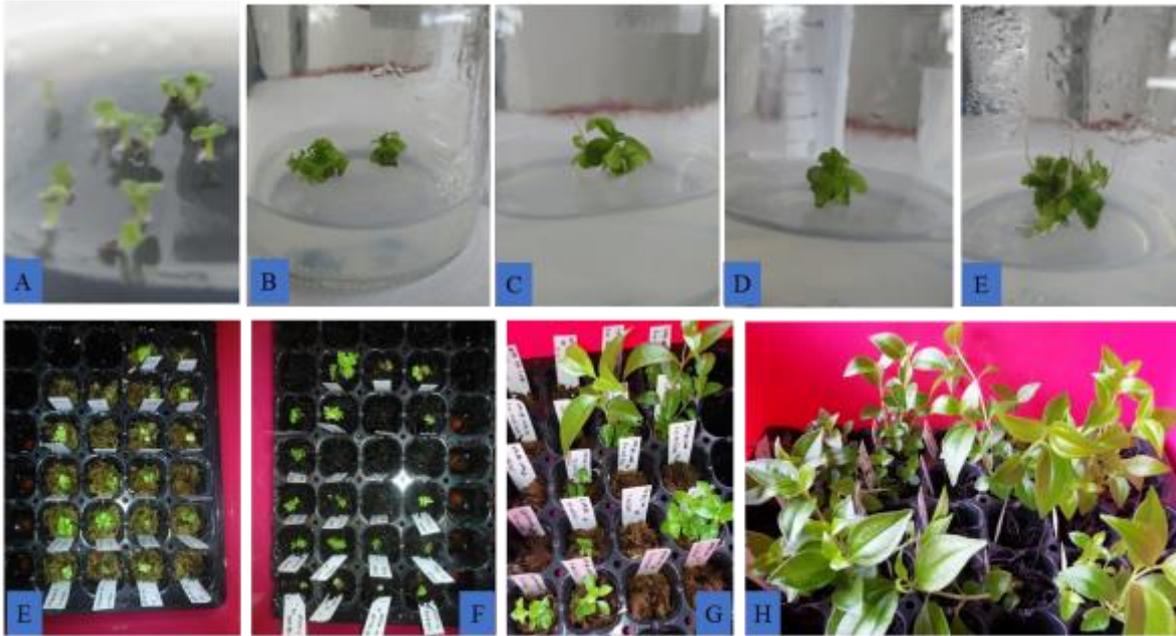
\*) Angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada  $\alpha = 0,05$ .

Jumlah tunas tertinggi diperoleh pada media 2 yaitu media MS yang dikombinasikan dengan 2 mg/L BAP dan 0,1 mg/L NAA (Tabel 3). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan media dengan kombinasi BAP dan NAA meningkatkan produksi tunas yaitu 8 jumlah tunas per eksplan dibandingkan dengan media 1 yang hanya menghasilkan 1,5 tunas per eksplan. Tingginya jumlah tunas pada media 2 kemungkinan karena eksplan hipokotil dan kotiledon muda secara fisiologis dan biokimia lebih aktif karena memiliki dinding sel yang kurang kaku dan mudah dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti zat pengatur tumbuh tanaman eksogen. Hipokotil dengan eksplan kotiledon mengandung sitokinin konsentrasi tinggi karena sitokinin disintesis di akar dan kemudian diangkut menuju pucuk melalui xilem (George dkk. 2008). BAP yang ditambahkan dalam media dapat berinteraksi dengan auksin endogen di dalam eksplan, adanya ZPT tersebut akan merangsang pembelahan sel dan morfogenesis pada eksplan sehingga menghasilkan pembentukan tunas. Hasil ini didukung dengan penelitian lain pada beberapa spesies lainnya bahwa peningkatan konsentrasi BAP dan NAA merupakan metode yang efektif untuk meningkatkan perbanyakan tunas. Wang dkk. (2015) melaporkan bahwa rasio perbanyakan pucuk *M. formosana* meningkat dengan meningkatnya konsentrasi BAP dan NAA. Elinorovololona dkk. (2014) juga melaporkan bahwa perbanyakan tunas *Medinilla mandrakensis* dapat meningkatkan produksi tunas setidaknya 13 hingga 16 tunas per eksplan dengan peningkatan konsentrasi BAP (0,5-2 mg/l)+NAA (0,1mg/l). Selanjutnya, Ping dkk. (2004) menyatakan pertumbuhan tunas dari eksplan tunas Jati (*Tectona grandis*) pada media MS dengan penambahan 2.0 mg/l BAP menghasilkan 80% tunas, sedangkan pada konsentrasi 0.1 mg/l BAP hanya menghasilkan 68% tunas.

Data tinggi tunas menunjukkan pengaruh positif keberadaan NAA pada media perbanyakan. Panjang tunas maksimum tercatat pada media 10 yaitu WPM dikombinasikan dengan 2 mg/L BAP dan 0,1 mg/L NAA dan jumlah daun tertinggi diperoleh pada media 1 dan media 2 yaitu MS dikombinasikan dengan 1 mg/L BAP dan 0,1 mg/L NAA dan MS dengan masing-masing 2 mg/L BAP dan 0,1 mg/L NAA (Tabel 3). Hasil ini menunjukkan bahwa produksi daun dan tinggi tunas dipengaruhi oleh (Sitokinin) dan NAA (Auksin). Semakin tinggi konsentrasi sitokinin (2 mg/L BAP) dan semakin rendah konsentrasi auksin (0,1 mg/L NAA) dapat meningkatkan jumlah daun dan tinggi tunas. Najaf-Abadi dan Hamidoghli (2009) melaporkan bahwa dalam kultur jaringan (serta tanaman utuh dan organ tanaman), sitokinin tampaknya diperlukan untuk pembelahan sel tanaman.

### 3.3. Aklimatisasi

Setelah perkembangan planlet lengkap, maka dilakukan aklimatisasi planlet, dimana planlet dikeluarkan dari tabung kultur dan dipindahkan ke media tanam sphagnum steril dan media cacahan pakis steril. Planlet yang diaklimatisasi menunjukkan tanda-tanda pertumbuhan yang baik dengan munculnya daun baru setelah empat minggu aklimatisasi. Media aklimatisasi yang paling baik adalah media cacahan pakis dengan tingkat kelangsungan hidup 81,8%, dan semua planlet secara morfologis normal (Gambar 3). Tingginya persentase hidup planlet pada media pakis kemungkinan karena media pakis bersifat porous sehingga mudah menyimpan dan mengikat air, serta dapat mengalirkan kelebihan air yang tidak dibutuhkan sehingga tidak mudah basah dan tergenang air, memiliki rongga-rongga untuk proses drainase dan aerasi yang baik dapat menyimpan cairan dalam waktu lama sehingga bisa menjadi sarana penyimpanan zat berbahaya bagi hama dan tetap ramah terhadap tanaman. Maka perakaran tanaman tetap terlindung dari hama untuk jangka waktu lama, mengandung unsur hara sebagai suplemen penambah nutrisi tanaman.



**Gambar 3.** Perbanyakan *In vitro* *M. beamanii* (A) Eksplan Hypocotyl dan cotyledon. B. Tunas muncul setelah 16 minggu; Media 2 (MSBA2NAA0.1) (B) Media WPMB2NAA0.1 (C) 1/2WPMB2NAA0.1 (D) 1/2MSBA2NAA0.1 (E) Tunas dan Akar pada media 1/2MS+2 mg/L BA and 0.1 NAA. Aklimatisasi Plantlet 1 bulan and 4 bulan (E, G). Plantlet pada media Spagnum; (F, H) Plantlet pada media cacahan pakis

#### 4. KESIMPULAN

Komposisi media yang efisien untuk perbanyakan *M. beamanii* secara *in vitro*, untuk perkecambahan biji *M. beamanii* adalah media MS0 dan 1/2WPM yang ditambah arang aktif 1 g/L, menunjukkan persentase daya berkecambah tertinggi yaitu 100%. Kemudian, untuk perbanyakan tunas, adalah media 2 dan media 10 menunjukkan jumlah perbanyakan tunas tertinggi dan tinggi tunas tertinggi. Media aklimatisasi terbaik adalah cacahan pakis dengan tingkat kelangsungan hidup 81,8%. Hasil penelitian ini menunjukkan pengaruh dan pentingnya zat pengatur tumbuh terhadap perbanyakan eksplan dari hipokotil dan kotiledon *M. beamanii*. Meskipun tanaman memiliki hormon pertumbuhan endogen, terkadang diperlukan suplementasi dalam kondisi *in vitro* untuk mendapatkan hasil yang optimal.

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, I., Hussain, T., Ashraf, I., Nafees, M., Maryam, R.M., and Iqbal, M., (2013), Lethal Effects of Secondary Metabolites on Plant Tissue Culture, *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci.*, 13(4), pp. 539–547.
- Al-Mizory, L.S.M., and Mayi, A.A., (2012), In Vitro Propagation of Walnut (*Juglans regia*) by Nodal Explants, *Journal of Agricultural Science and Technology B 2*, pp. 665– 670.
- Castele, K.L.V., Dauw-van Keymeulen, M.I., Debergh, P.C., Maene, L.J., Flamée, M.C., and Van Sumere, C.F., (1981), The Phenolics and A Hydrolysable Tannin Polyphenol Oxidase of *Medinilla magnifica*. *Phytochemistry*, 20(5), pp. 1105–1112.
- Debergh, P.C., and Maene, L.J., (1981), A Scheme for Commercial Propagation of Ornamental Plants by Tissue Culture. *Scientia Horticulturae*, 14(4), pp. 335– 345.
- Elinorovololona, R.N., and Martial, E.L., (2014), Effects of Growth Regulators 6-Benzylaminopurine and 2-Naphtalene Acetic Acid on the In Vitro Shoot Multiplication from Nodal Segment of *Medinilla mandrakensis* (Melastomataceae), *International Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 3(1), pp. 504–510.

- George, E.F, Hall, M.A., and de Klerk, G.J., (2008), Plant Propagation Tissue Culture 3rd ed. Springer, Netherlands, pp.1, 2, 175–187, 205–216.
- Lee, C.Y., and Whitaker, J.R., (1995), Enzymatic Browning and Its Prevention in Recent Advances in Chemistry of Enzymatic Browning, eds Lee, C.Y., and Whitaker, J.R., American Chemical Society, Washington, DC.
- Mabberley, D.J., (2008), Mabberley's Plant Book: A Portable Dictionary of Plants, Their Classification and Uses. 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge, pp 1021.
- Madulid, D.A., (1995), A Pictorial Cyclopedia of Philippine Ornamental Plants. Bookmark, Makati, pp 388.
- Murashige T and Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473 – 497.
- Najaf-Abadi, A.J., and Hamidoghli, Y., (2009), Micropropagation of Thornless Trailing Blackberry (*Rubus* sp.) by Axillary Bud Explants. *Aus J Crop Sci.* 3(4), pp. 191–194.
- Ping, L.S., Aziz, M.A., Sinniah, U.R., and Zainudin, F., (2004), In Vitro Regeneration System of Teak (*Tectona grandis* L.), in Proceeding of 4th Annual Seminar of National Science Fellowship, edited by Abdul et al. Universiti Sain Malaysia, Pulau Pinang, Malaysia, pp. 151–154.
- Regalado, J.C., (1990), Revision of *Medinilla* (Melastomataceae) of Borneo. *Blumea-Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*, 35, pp. 5–70.
- Reinert, J., and Bajaj, Y.P.S., (1977), Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Springer, Berlin.
- Rosario, T.L., and Mendoza, M.B., (1998), Some Cultivated Species of Philippine *Medinilla* (Melastomataceae). *Philippine Journal of Crop Science*, 23(1), pp. 72.
- Shin, Y.K., Baque, M.A., Elghamedi, S., Lee, E.J., and Paek, K.Y., (2011), Effects of Activated Charcoal, Plant Growth Regulators and Ultrasonic Pre-treatments on In Vitro Germination and Protocorm Formation of *Calanthe* Hybrids. *Australian Journal of Crop Science*, 5(5), pp. 582– 588.
- Suranthran, P., Sinniah, U.R., Subramaniam, S., Azis, M.A., Romzi, N., and Gantait, S., (2011), Effect of Plant Growth Regulators and Activated Charcoal on In Vitro Growth and Development of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var. Dura) Zygotic. *African Journal of Biotechnology*, 10(52), pp. 10600– 10606.
- Than Than, V.K., and Trinh, H., (1978), In *Frontiers of Plant Tissue Culture*. Calgary, Alta, Canada.
- van den Brink Bakhuizen, R.C. Jr., (1945), A Contribution to The Knowledge of The Melastomataceae Occurring in the Malay Archipelago Especially in the Netherlands East Indies. *Mededelingen van het Botanisch Museum en Herbarium van de Rijksuniversiteit te Utrecht. Societe Botanique Neerlandaise, Utrecht*, pp. 391 pp.
- Wang, Y., Feng, D.D., Li, X.B., and Chen, J.P., (2015), An Effective Route for The Micropropagation of *Medinilla formosana* through Ovary Culture In Vitro. *Annals of Forest Research*, 58(2), pp. 235–243.
- Willis, J.C., (1973.), *A Dictionary of the Flowering Plants and Ferns*. 8th ed. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1245.
- Znanięcka, J., Krolicka, A., Gorycka, M.S., Rybczynski, J.J., Szlachetko, D.L., and Lojkowska, E., (2005), Asymbiotic Germination, Seedling Development and Plantlet Propagation of *Encyclia* aff. *oncidoides* – An Endangered Orchid. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 74(3), pp. 193–198.