

## **Teknologi penghasilan anak benih nanas MD2 melalui kaedah kultur tisu dan penilaian kajian lapangan**

(Technology production of MD2 pineapple seedlings through tissue culture and evaluation of field study)

Zuraida Ab Rahman, Hartinee Abbas dan Ayu Nazreena Othman

### **Pengenalan**

Industri nanas negara bergantung kepada bekalan sulur bagi menghasilkan benih nanas berkualiti. Sulur nanas merupakan komponen utama dalam proses penanaman nanas sama ada melalui penanaman semula atau penanaman baharu. Pembiakan nanas secara konvensional melalui sulur akan menghasilkan satu anak pokok bagi setiap sulur. Kaedah ini tidak mampu membantu usaha memenuhi permintaan pasaran berskala besar yang semakin meningkat. Sudah pastinya ini akan merugikan petani yang ingin mengusahakan projek penanaman secara berskala besar. Kebergantungan penghasilan anak benih kepada sulur atau jambul bagi menghasilkan satu anak pokok juga tidak digalakkan. Ia akan mengundang kepada risiko penyakit jika terdapat induk yang telah dijangkiti. Jika dibiak dan ditanam di ladang pula akan menyebabkan penyakit mudah merebak kepada pokok nanas yang lain.

Sulur batang adalah sumber benih nanas yang paling lazim dan banyak digunakan. Sulur ini keluar pada bahagian batang nanas yang dituai. Penghasilan benih nanas dapat ditingkatkan berkali ganda menerusi penggunaan kaedah kultur tisu melalui sistem kultur cecair. Proses menghasilkan anak benih nanas menggunakan sistem kultur cecair telah dibangunkan di Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi (BT) MARDI. Inovasi ini dapat menyelesaikan masalah bekalan anak benih nanas sekali gus memajukan industri nanas negara. Bekalan anak benih nanas MD2 yang mencukupi akan menggalakkan pertumbuhan industri nanas dan membuka ruang serta menyediakan peluang pekerjaan kepada pekebun kecil.

### **Penghasilan benih kultur tisu nanas MD2**

Teknologi ini telah dipaten (*Intellectual property*) pada tahun 2013 bawah rahsia dagang (*trade secret*) (IP-TS 2013/02/009) bertajuk “Proses menghasilkan anak benih nanas MD2 dengan menggunakan sistem kultur cecair (*liquid shake culture*)”. Ia merupakan anak benih nanas secara kultur tisu. *Gambar 1* menunjukkan sumber bahan nanas yang digunakan iaitu jambul. Pucuk pemula dihasilkan pada permulaan proses,



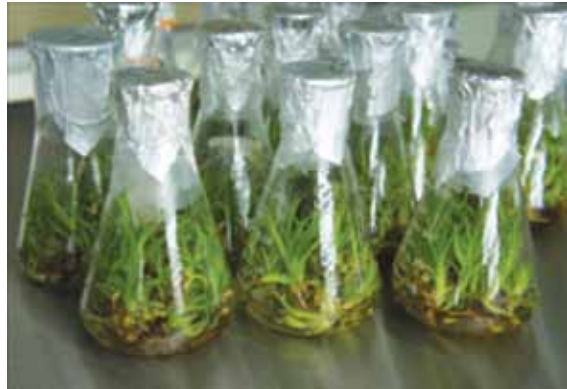
a) Sumber bahan



b) Penghasilan pucuk pemula



c) Perkembangan pucuk

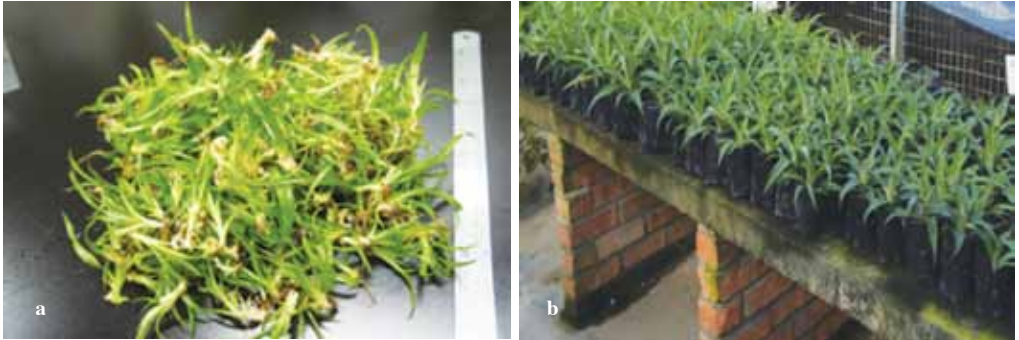


d) Peringkat propagasi

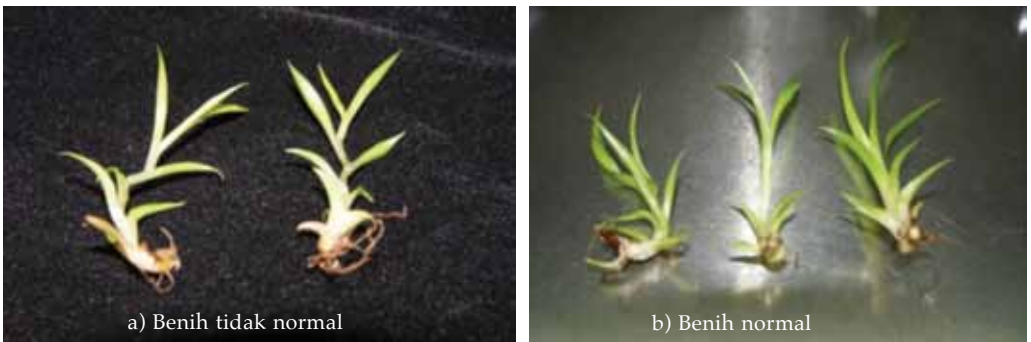
Gambar 1. Penghasilan anak benih kultur tisu nenas MD2 dari peringkat jambul. (a) Sumber bahan jambul, (b) Pucuk pemula dihasilkan selepas sebulan di dalam kultur, (c) Pucuk pemula terus berkembang menjadi lebih besar dan (d) Plantlet dipindah ke dalam balang lain untuk dipropagasikan dalam bilangan yang lebih banyak

kemudian digandakan dan dibiak baik menggunakan kaedah goncangan dan medium cecair yang mengandungi hormon bagi menghasilkan anak benih dalam jumlah yang besar. Anak benih nenas tanpa akar yang terhasil dipindahkan terus ke rumah kaca tanpa melalui proses pengakaran secara *in vitro* (Gambar 2). Medium campuran yang sesuai untuk pertumbuhan anak benih nenas secara *in vivo* adalah mudah dan tidak perlu melalui proses pensterilan dan 'acclimatization'. Dengan itu masa dan tenaga boleh dikurangkan malah dapat memudahkan operasi pemindahan anak benih. Inovasi ini juga boleh mengurangkan kos pengeluaran di samping meningkatkan kualiti anak benih berbanding dengan teknologi terdahulu.

Benih nenas MD2 diambil di Pontian, Johor dan dibiakkan menggunakan kaedah kultur tisu. Dalam pengendalian kaedah kultur tisu, bilangan subkultur merupakan salah satu faktor penentuan variasi benih yang dihasilkan selain kepekatan hormon yang digunakan. Dalam kajian yang dijalankan, terdapat beberapa peringkat subkultur benih yang dihasilkan



Gambar 2. (a) Anak benih nanas tanpa akar, (b) Pemandangan anak benih ke rumah kaca di dalam polibeg



Gambar 3. Plantlet yang tidak normal diperingkat in vitro (a) dan normal (b)

iaitu peringkat 2 – 9 dengan menggunakan hormon BAP rendah dan hormon tinggi.

Dalam proses pengenalpastian variasi, pokok yang bermasalah dapat dikenal pasti di peringkat makmal lagi. Jika subkultur dijalankan dalam masa yang lama, ia akan menjadi bentuk yang panjang dan menjalar (berlaku variasi) [Gambar 3(a)]. Manakala pokok yang normal akan kelihatan seperti dalam Gambar 3(b) dan akan dibuang kerana tidak boleh digunakan untuk peringkat penanaman.

### Variasi nanas MD2 dan penilaian kajian lapangan di MARDI Sintok, Kedah

Nanas MD2 merupakan varieti nanas yang paling popular pada masa kini dan mendapat perhatian yang luar biasa daripada pengusaha tanaman nanas. Ini kerana kualiti rasanya yang enak dan permintaan yang tinggi bagi pasaran eksport nanas dunia. Ciri asal buah MD2 yang berasal dari *Costa Rica* adalah berbentuk silinder dengan berat buah 1.3 – 2.5 kg, nilai kemanisan melebihi 14 °Brix dan nilai asidnya 0.4 – 0.45%. Walau bagaimanapun, terdapat banyak variasi dalam bentuk buah MD2 yang ditanam di Malaysia di mana bentuk buah menjadi lonjong menyerupai buah nanas Morris. Keadaan ini

menyebabkan buah nanas MD2 yang dikeluarkan oleh petani di Malaysia tidak dapat dijual di pasaran eksport.

Antara penyebab utama keadaan ini berlaku adalah berpunca daripada buah yang berbentuk lonjong. Buah yang berbentuk lonjong ini dikatakan berasal daripada anak benih kultur tisu nanas MD2 yang diimport dari negara luar. Anak benih yang tidak diterima ini telah berubah bentuk buahnya daripada bentuk asal iaitu silinder kepada lonjong. Pengusaha nanas telah memaklumkan bahawa anak benih yang ditanam menggunakan teknologi kultur tisu adalah tidak baik. Pelbagai pihak banyak menyatakan bahawa anak benih yang dihasilkan melalui teknologi ini mempunyai masalah somaklonal yang tinggi. Namun tiada data sahih yang menyokong pernyataan ini.

Satu kajian penilaian di lapangan terhadap bahan tanaman kultur tisu nanas MD2 telah dijalankan di MARDI Sintok, Kedah bermula pada tahun 2013 – 2015. Terdapat sembilan *batch* pada kategori kumpulan subkultur yang berbeza seperti *Jadual 1*. Bahan tanaman yang digunakan adalah daripada nanas MD2 yang dihasilkan daripada teknologi kultur tisu nanas secara goncangan cecair. Penghasilan bahan kultur tisu ini adalah dari Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi di MARDI, Serdang. Kumpulan rawatan diklasifikasi kepada bilangan subkultur dan kepekatan hormon yang digunakan iaitu 1 mg/liter BAP atau 5 mg/liter BAP. Anak benih di dalam polibeg (*Gambar 4*) digunakan sebagai anak benih awal yang ditanam di MARDI Sintok untuk kajian lapangan. Penilaian dari segi pertumbuhan, respons terhadap hormon pembungaan dan data kualiti hasil diambil. Setiap kumpulan ditanam secara rawak dan diselenggara menggunakan pakej pengurusan nanas MARDI.



*Gambar 4. Benih nanas MD2 di dalam rumah kaca Pusat BT sedia dipindahkan ke MARDI Sintok*

## Penilaian kajian lapangan benih tisu kultur nanas MD2

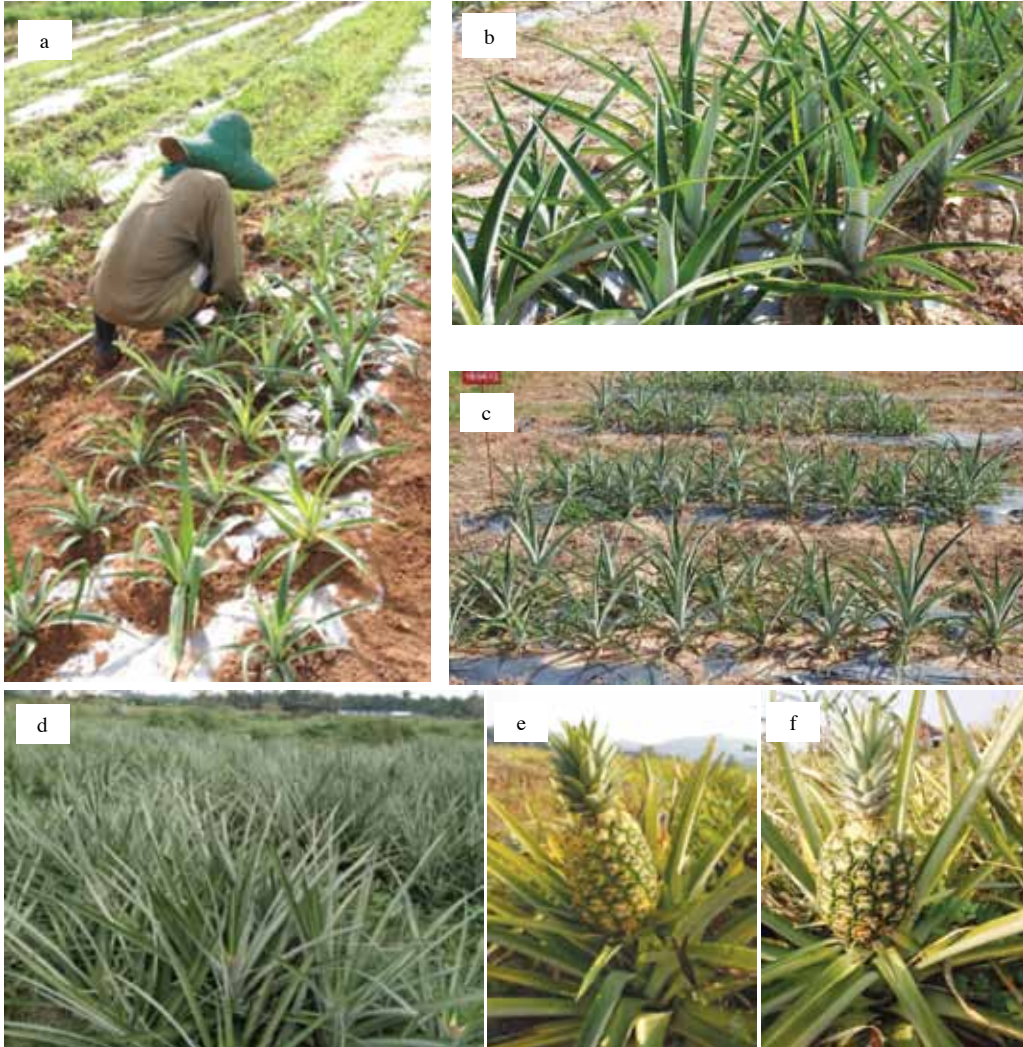
Kajian lapangan yang dijalankan terhadap anak benih kultur tisu telah direkodkan seperti dalam *Jadual 1*. Nanas ditanam di lapangan di MARDI Sintok daripada pemindahan anak benih sehingga memperoleh hasil (*Gambar 5*). Antara data penting yang mungkin ada kaitan dengan somaklonal direkodkan seperti jenis bentuk dan peratusan yang dihasilkan, peratusan pembungaan dan berat buah. Data lain seperti pertumbuhan (bilangan daun dan tinggi pokok), berat basah keseluruhan pokok (daun, tangkai, buah serta jambul dan jambul), berat kering keseluruhan pokok (daun, tangkai dan jambul), panjang dan lebar (buah, tangkai dan daun) serta kualiti (TSS) juga diambil, namun tidak diperlukan dalam permasalahan somaklonal dan ia tidak ditunjuk dalam artikel ini.

## Pengelasan bentuk buah nanas MD2

Ciri bentuk buah MD2 yang sesuai untuk pasaran eksport ialah segi empat (*square like*, SL) dan silinder lonjong sedikit (*cylindrical slight taper*, CST). Manakala bentuk buah silinder sangat lonjong (*cylindrical sharp taper*, CSHT) merupakan bentuk buah yang tidak dikehendaki dan bentuk buah inilah yang selalu disebut sebagai terdapat variasi somaklonal dalam bahan tanaman tisu kultur MD2 (*Gambar 6*).

Jadual 1. Data respons terhadap hormon pembungaan, bentuk buah yang terhasil dan berat buah

Batch	Kumpulan Rawatan	Bentuk	Bentuk (%)	Pembungaan (%)	Berat buah (g)
1	Subkultur-2, 17 Jan., 1 mg/liter BAP	SL	78.46	95.33	892 – 1582
		CST	21.54		720 – 1404
2	Subkultur-3, 07 Mac, 1 mg/liter BAP	SL	87.23	94.09	217 – 2450
		CST	12.77		392 – 1454
3	Subkultur-3, 26 Mac, 5 mg/liter BAP	SL	66.66	60.00	474 – 764
		CST	33.33		578 – 890
4	Subkultur-4, 18Apr., 1 mg/liter BAP	SL	84.21	93.33	171 – 1856
		CST	15.79		544 – 1240
5	Subkultur-7, 25 Jul., 1 mg/liter BAP	SL	94.44	70.00	178 – 1452
		CST	5.56		550 – 1084
6	Subkultur-8, 02 Ogos, 5 mg/liter BAP	SL	60.00	75.00	521 – 1227
		CST	40.00		546 – 788
7	Subkultur-9, 10 Ogos, 1 mg/liter BAP	SL	80.00	81.25	283 – 1859
		CST	20.00		469 – 1577
8	Subkultur-9, 13 Ogos, 5 mg/liter BAP	SL	80.00	21.67	309 – 516
		CST	20.00		478 – 900
9	Subkultur-10, 06 Sept., 1 mg/liter BAP	SL	85.92	79.41	122 – 1982
		CST	12.68		715 – 1577
		CSHT	0.86		1912

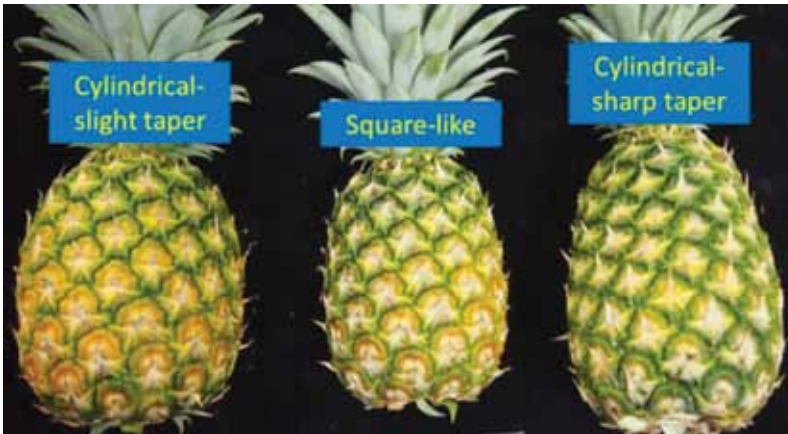


Gambar 5. Proses penanaman dan pertumbuhan nanas MD2 di lapangan, MARDI Sintok (a – d). Sebahagian daripada hasil produk nanas tisu kultur MD2 yang telah berbuah (e – f)

### Respons terhadap hormon pembungaan, bentuk buah dan hasil

Terdapat sembilan *batch* serta kumpulan rawatan anak benih pokok kultur tisu yang telah ditanam pada persekitaran dan pembajaan yang sama. Kumpulan rawatan terdiri daripada bilangan subkultur (2, 3, 4, 7, 8, 9 dan 10) dan kepekatan hormon (1 dan 5 mg/liter BAP) (*Jadual 1*). Didapati subkultur yang ke-2 hingga 8 merupakan rawatan yang menghasilkan 100% buah berbentuk jenis SL dan CST dan tiada bentuk CSHT. Namun keputusan menunjukkan kadar peratusan pembungaan adalah berbeza mengikut bilangan subkultur dan kepekatan hormon yang digunakan. Secara umumnya, data menunjukkan bahawa semakin tinggi bilangan subkultur, semakin menurun peratusan pembungaan. Rawatan hormon

yang tinggi iaitu pada kepekatan 5 mg/liter BAP telah menyebabkan peratusan pembungaan yang rendah berbanding dengan rawatan menggunakan 1 mg/liter BAP. *Batch* 1, 2 dan 4 (*Gambar 7*) menunjukkan kumpulan rawatan yang paling berpotensi kerana menghasilkan jenis buah MD2 dalam bentuk SL dan CST sahaja. Di samping itu, ketiga-tiga batch ini menunjukkan potensi yang baik kerana mempunyai nilai peratusan respons terhadap hormon pembungaan melebihi 90% yang merupakan ciri yang sangat penting bagi tanaman nanas. Selain itu, bentuk buah yang dihasilkan oleh pokok daripada ketiga-tiga *batch* ini melebihi 78% SL dan 22% CST.



*Gambar 6.* Jenis bentuk buah MD2 yang diperolehi dalam kajian lapangan ke atas anak benih kultur tisu



*Gambar 7.* Rawatan yang terbaik dan berpotensi dalam pemilihan bahan tanaman kultur tisu MD2 yang menghasilkan 100% bentuk SL dan CST

Kumpulan rawatan ini juga tidak menunjukkan sebarang variasi yang boleh menjejaskan kualiti buah MD2 dari segi bentuk buah yang dihasilkan, respons terhadap hormon pembungaan dan mampu menghasilkan buah gred A (1.3 dan  $\leq 2.5$ ) dan B (1.0 – 1.3 kg). Berat buah yang terhasil daripada bahan tanaman 1, 2 dan 4 adalah pelbagai. Walau bagaimanapun, hasil tertinggi yang dicatatkan ialah 2.45 kg oleh *batch* dua. Permasalahan daripada keputusan kajian, *batch* sembilan (subkultur yang ke-10) yang menunjukkan variasi dalam bentuk buah CSHT iaitu sebanyak 0.86%.

### **Kesimpulan**

Kajian penghasilan teknologi kultur tisu nanas secara goncangan cecair yang dijalankan di Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi mampu menghasilkan anak pokok nanas MD2 yang berbentuk segi empat (*square like*, SL) dan silinder lonjong sedikit (*cylindrical slight taper*, CST) dengan peratusan yang tinggi. Namun begitu, pemilihan bahan asas tanaman tulen (pokok MD2 yang bentuk buahnya ialah silinder atau segi empat) yang digunakan untuk pengeluaran secara kultur tisu sangat penting kerana akan menghasilkan anak pokok nanas MD2 yang berkualiti setanding dengan yang tulen. Kajian secara berskala besar perlu diteruskan dan dijalankan bagi mendapat data yang boleh meyakinkan dan perlu mewakili kawasan yang lebih luas sekurang-kurangnya satu hektar.

### **Ringkasan**

Bioteknologi tumbuhan merupakan alternatif yang boleh dilaksanakan untuk membantu mengatasi risiko kekurangan makanan. Kultur tisu tumbuhan adalah asas kepada semua bioteknologi dan merupakan bidang yang penting dalam sains asas untuk penyelidikan lanjut. Nanas (*Ananas comoscs*) ialah buah-buahan tropika yang telah dikomersialkan untuk pengeluaran dunia. Menurut Lembaga Perindustrian Nanas Malaysia (LPNM), pengeluaran nanas Malaysia telah jatuh kepada kedudukan ke-15 berdasarkan data 2014. Terdapat peningkatan permintaan untuk bahan nanas MD2 kerana nanas ini memerlukan tempoh masa yang panjang untuk menghasilkan *slip* / sulur. Permasalahan ini boleh diatasi dengan pengeluaran anak benih melalui teknik kultur tisu. Di MARDI, kajian pengeluaran anak pokok (*plantlets*) nanas MD2 telah dijalankan dengan menggunakan teknik goncangan cecair secara kultur tisu boleh dipertingkatkan berbanding dengan secara normal. Anak pokok yang dikeluarkan akan ditanam di rumah kaca untuk menyesuaikan diri selama 1 – 2 bulan sebelum dipindahkan ke ladang. Semasa penilaian di ladang, hasil buah telah menunjukkan perbezaan dari segi peratusan bentuk buah. Data menunjukkan hanya 0.86% bentuk *cylindrical sharp taper* (CSHT) dan 12.68% bagi bentuk *cylindrical slight taper* (CST) selepas 10 kali eksplan di subkultur. Malah bentuk SL yang dihasilkan telah menunjukkan peratusan tertinggi iaitu pada kadar 85.92%.



## Summary

Plant biotechnology may well present feasible alternatives which could greatly help rise above the risks of food shortages. Plant tissue culture is basic to all plant biotechnologies and is an important area of basic and applied sciences with considerable scope for further research. Pineapple (*Ananas comoscs*) is an important crop that reflected in the ranking of commercial tropical fruits for production on a worldwide. According to the Malaysian Pineapple Industry Board (MPIB), Malaysia has fallen to the 15th position based on 2014 data. There is an increase the demand for MD2 planting materials because MD2 needs a long period of time to produce slips/suckers. This problem could be overcome by producing large number of plantlets through tissue culture techniques. In MARDI, the study of MD2 pineapple had been done through *in vitro* liquid shake culture technique. The plantlets production can be scaled up many fold compared to normal cultivation. Plantlets are generally allowed to acclimatize in the greenhouse for approximately 1 – 2 months before transplanted to the field. During field evaluation, fruit formation from tissue culture material there were varies results on shape of fruit. The result showed that only 0.86% produce cylindrical sharp taper shape (CSHT) and 12.68% for cylindrical slight taper shape (CST) after 10 times sub-culturing of explants. Moreover, square like shape (SL) produced the highest percentage at 85.92%.

## Pengarang

Zuraida Ab Rahman

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi,

Ibu Pejabat MARDI, Serdang, Persiaran MARDI-UPM 43400 Serdang, Selangor

E-mel: azuraida@mardi.gov.my

Hartinee Abbas

Pusat Penyelidikan Hortikultur, MARDI Sintok,

06050 Bukit Kayu Hitam, Kedah

Ayu Nazreena Othman

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi,

Ibu Pejabat MARDI, Serdang, Persiaran MARDI-UPM 43400 Serdang, Selangor