Jurnal Penelitian Kelapa Sawit, 1999, 7(3) : 145 - 156
Indonesian Journal of Oil Palm Research, 1999, 7(3) : 145 - 156

PERANAN MIKORIZA VESIKULER-ARBUSKULER (MVA) DALAM MENINGKATKAN PENYESUAIAN DIRI PLANLET KELAPA SAWIT TERHADAP KONDISI LINGKUNGAN TUMBUH ALAMI

C. Schultz[1], Subronto, Sjafrul Latif, A.M. Moawad[2], dan P.L.G.Vlek[1,2]

ABSTRAK

Bahan tanaman kelapa sawit yang diperbanyak secara kultur jaringan harus terlebih dahulu diaklimatisasi sebelum dipindah ke lingkungan di luar tabung. Hal ini disebabkan planlet sangat peka terhadap perubahan lingkungan karena pertumbuhan akar dan daun yang kurang sempurna, serta belum terbentuknya lapisan lilin pada jaringan kutikula. Kematian planlet pada tahap aklimatisasi dapat mencapai 30 –40 %. Untuk meningkatkan daya hidup planlet pada tahap ini dilakukan tiga percobaan. Planlet diinokulasi dengan 12 jenis MVA yang berbeda. Planlet dicabut setelah tiga bulan, pengamatan adanya kematian dilakukan dua kali seminggu. Inokulasi MVA ternyata dapat meningkatkan daya hidup planlet. Dua jenis MVA dari genus Acaulospora *merupakan MVA yang cocok dan efektif meningkatkan daya hidup planlet menjadi 91 % dibandingkan dengan tanpa inokulasi yang hanya 62 %. Pemupukan P bersifat sinergistik terhadap inokulasi MVA dan perlindungan planlet terhadap serangan patogen tular udara melalui penyungkupan dengan plastik dan penggunaan* sunbag *juga dapat meningkatkan persentase daya hidup planlet.*

Kata kunci: *Elaeis guineensis*, perbanyakan *in vitro*, mikoriza vesikuler arbuskuler, *Acaulospora*

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan primadona tanaman perkebunan Indonesia. Pada tahun 1998 jumlah minyak sawit mentah (CPO) yang dihasilkan mencapai 5,9 juta ton dengan nilai ekspor mencapai US $ 1.740.355.000. Kondisi ini dapat dicapai sebagai hasil perluasan areal dari tahun 1989 sampai tahun 1998 yang meningkat tiga kali lipat (1,8 juta ha) (5). Perkembangan industri kelapa sawit yang demikian pesat perlu didukung oleh keberadaan bahan tanaman kelapa sawit yang berkualitas.

Salah satu bahan tanaman unggul yang dapat mendukung industri kelapa sawit adalah klon kelapa sawit. Bahan tanaman kelapa sawit yang diperbanyak melalui teknologi *in-vitro* ini memiliki tingkat produksi yang tinggi, dan dapat diperbanyak secara massal guna mendapatkan kultivar yang homogen. Di sisi lain, perbanyakan melalui teknologi *in vitro* juga memiliki kendala, antara lain daya hidup planlet yang rendah pada saat aklimatisasi. Proses aklimatisasi adalah tahap penyesuaian diri planlet dari kondisi pertumbuhan yang steril dan terkontrol ke suasana yang jauh berbeda, dengan banyak cekaman lingkungan. Rendahnya daya hidup planlet disebabkan pertumbuhan akar dan daun yang kurang baik, serta kurang berkembangnya lapisan kutikula. Tingkat kematian pada saat aklimatisasi berkisar antara 30 - 40 %. Penggunaan mikoriza vesikuler dan arbuskuler (MVA) diketahui dapat meningkatkan daya hidup planlet ubi kayu (1), nanas (6), petai cina (10) dan *Sesbania sesban* (12). Dalam makalah ini dikemukakan hasil percobaan penggunaan MVA untuk meningkatkan daya hidup planlet kelapa sawit.

[1]Institut Agronomi Tropika, Universitas Gottingen, Jerman
[2]Pusat Penelitian Pengembangan (ZEF) Universitas Bonn, Jerman

BAHAN DAN METODE

Tiga percobaan di rumah kaca Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) dilaksanakan sejak November 1997 sampai dengan Februari 1998.

Percobaan 1

Percobaan ini merupakan percobaan awal untuk memilih berbagai isolat MVA untuk mengetahui keefektifannya dalam meningkatkan daya hidup dan pertumbuhan planlet. Lima klon kelapa sawit masing-masing sebanyak 13 planlet diinokulasikan dengan 12 jenis isolat MVA yang berbeda (M1-M12). Sebanyak 40 planlet digunakan sebagai kontrol (tanpa inokulasi). Selama masa pengamatan, planlet tidak diberikan perlakuan pemupukan.

Percobaan 2

Planlet diinokulasi dengan 4 jenis isolat MVA yaitu (M1-M4) yang telah dipilih dari percobaan 1. Tiga taraf pemupukan fosfat yang digunakan yaitu:

PO : kontrol, tanpa pemupukan fosfat,
HA : media mengandung hidroksilapatit [$Ca_5(PO_4)_3OH$],
BAY: Bayfolan (11% N, 8% P_2O_5, 6% K) yang biasa digunakan secara rutin.

Setiap perlakuan diulang dengan menggunakan 30 planlet.

Percobaan 3

Tujuan dari percobaan 3 adalah untuk mengetahui pengaruh inokulasi MVA terhadap daya hidup planlet dalam upaya membedakan kematian akibat patogen. Percobaan dirancang sebagai berikut :

a = diinokulasi dengan tiga jenis isolat MVA (M1, M2, M3)
b = ditumbuhkan dalam media yang disterilisasi (A) dan tidak disterilisasi (B)
c = planlet ditumbuhkan dalam kantong plastik spesial (*sunbag*), atau ditutup dengan kantong plastik. Tanaman kontrol ditanam seperti keadaan rutin.

Setiap unit percobaan menggunakan 10 planlet.

MVA yang digunakan berasal dari kawasan tropis yang diperoleh dari Institut Agronomi Tropika (IAT), Universitas Göttingen, Jerman.

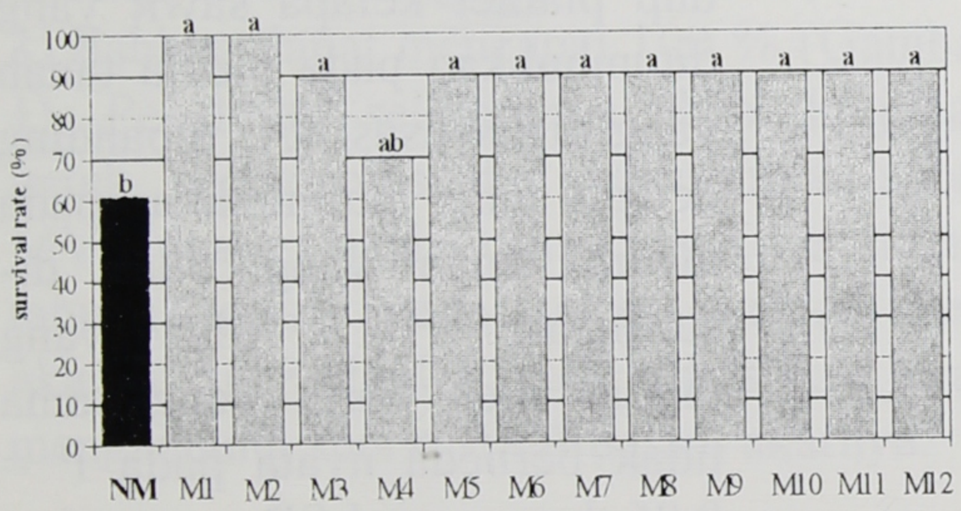
Pada saat awal tahap aklimatisasi, planlet ditanam dalam polibeg dan langsung diinokulasi dengan MVA di sekitar perakaran pada kedalaman tanah 5 cm. Inokulum berupa campuran tanah dan akar yang mengandung spora MVA dengan dosis 80 spora/polibeg. Tanah dalam polibeg merupakan campuran dari tanah lapisan atas *(topsoil)* dan pasir dengan perbandingan 2:1 (b/b). Polibeg ditempatkan dalam rumah kaca dengan suhu harian 30°C dan suhu malam 25°C, serta kelembaban udara relatif 60-95%. Penyiraman dilakukan setiap hari dengan aquades sebanyak 50 ml/polibeg. Pencatatan kematian dilakukan dua kali seminggu. Tanaman dicabut setelah berumur tiga bulan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok. Beda antar nilai tengah dianalisis dengan uji LSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan 1

Kesebelas isolat mikoriza secara nyata meningkatkan daya hidup planlet

kelapa sawit kecuali isolat M4 (Gambar 1). Dua species dari genus *Acaulospora* (M1, M2) merupakan jenis yang paling cocok dan efektif. Persentase planlet hidup yang diinokulasi dengan kedua jenis VAM ini adalah 91 % berbanding dengan 62 % dari planlet yang tidak diinokulasi, tetapi di antara perlakuan yang diinokulasi tidak berbeda nyata. Hasil percobaan ini sama dengan yang diperoleh Widiastuti dan Tahardi (14) dengan menggunakan 3 jenis MVA yang dapat meningkatkan persentase hidup 3 jenis klon kelapa sawit mendekati 100 %. Pada penelitian ini diketahui bahwa tidak terdapat interaksi antara jenis klon dan inokulasi MVA. Pada percobaan yang dilakukan oleh Widiastuti dan Tahardi (14) diketahui bahwa pemberian inokulasi MVA dari spesies *Acaulospora* pada klon kelapa sawit tidak berbeda nyata dengan perlakuan tanpa inokulasi (kontrol).



Gambar 1. Pengaruh isolat MVA (M1-M12) terhadap persentase hidup planlet. Nilai yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada P = 0,05 dengan uji LSD. NM = tanpa inokulasi

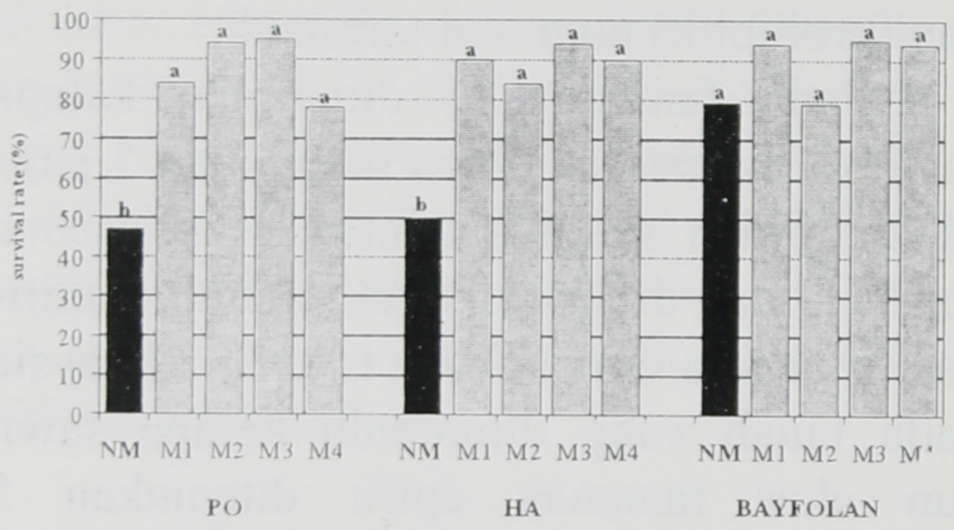
Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tingkat infeksi dan keefektifan dari beberapa MVA yang digunakan selama tahap aklimatisasi terhadap keberhasilan hidup planlet. Setiap jenis dan *strain* MVA mempunyai kemampuan yang berbeda dalam meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan dari tanaman yang diinokulasi. Simbiosis antara MVA dan tanaman inang ditentukan oleh jenis dan tingkat kesuburan tanah, spesies inang, spesies dari MVA, dan kontaminasi dari mikroba lainnya. Pada keadaan alami tanaman dikoloni oleh MVA, sedangkan pada teknik perbanyakan *in-vitro* seluruh mikroba termasuk MVA disterilisasi, demikian juga dengan alas tempat tumbuh tanaman di lingkungan *ex-vitro*. Hal ini menyebabkan mikroba yang menguntungkan (probiotik) juga ikut terbunuh.

Pada tanah yang ditumbuhi kelapa sawit di Sumatera Utara ditemukan 5 jenis MVA. Salah satunya adalah *Acaulospora* spp (11) dan di Jawa Barat telah diidentifikasi 3 genera dari MVA (15). Di Malaysia pada tanah yang ditumbuhi kelapa sawit dan akar tanaman epifit ditemukan 5 spesies MVA (8). Walaupun demikian perlu diingat bahwa terdapat perbedaan tingkat kolonisasi setiap jenis dan *strain* MVA pada akar tanaman, bergantung pada latar belakang genetik, baik dari kedua simbion dan juga kondisi tanahnya (13).

Percobaan 2

Planlet yang diinokulasi dengan MVA (M) tanpa pemupukan P (PO) dan pemupukan P berupa hidroksilapatit (HA) menunjukkan persentase hidup yang berbeda nyata dengan kontrol (NM) (Gambar 2). Persentase hidup planlet meningkat 41% pada perlakuan PO dan 43% pada perlakuan HA, sedangkan inokulasi mikoriza meningkatkan daya hidup planlet sebesar 91%. Pemupukan dengan Bayfolan tidak menunjukkan adanya perbedaan daya hidup planlet yang nyata antara planlet yang diinokulasi (M) dan tanpa inokulasi (NM). Blal *et al.* (3) telah mencoba

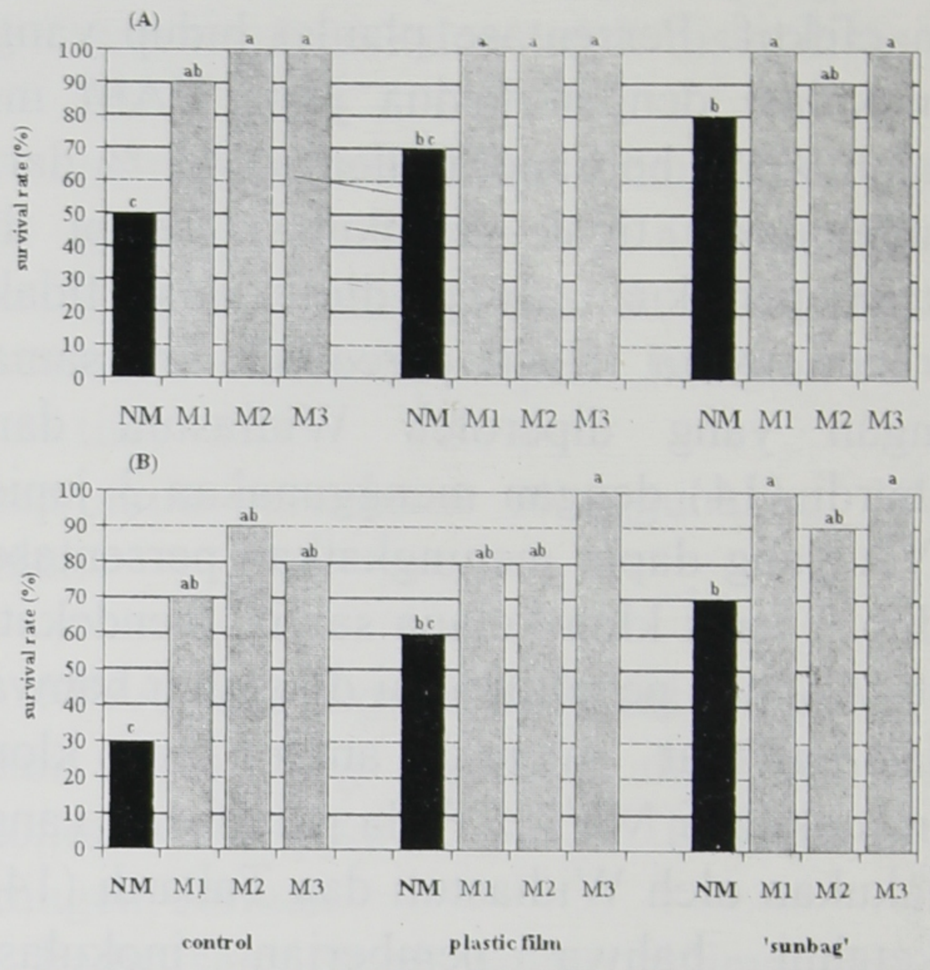
pengaruh MVA pada planlet kelapa sawit untuk melihat efisiensi penyerapan TSP dan RP yang ditanam dalam pot pada dua jenis tanah masam pemfiksasi P di Pantai Gading. Hasil penelitian Blal *et al.* (3) menunjukkan bahwa planlet yang diinokulasi dengan MVA dan planlet kontrol (tanpa MVA) dapat mengabsorbsi P dari tanah yang dipupuk. Penelitian Blal *et al.* (3) juga menunjukkan bahwa inokulasi MVA dapat meningkatkan pertumbuhan planlet dan penyerapan P, K, Ca, dan Mg.



Gambar 2. Pengaruh inokulasi MVA dan pemupukan fosfat pada persentase hidup planlet kelapa sawit. Nilai yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada P = 0,05 dengan uji LSD

Percobaan 3

Pada percobaan 3 hampir semua planlet yang diinokulasi dengan MVA (M) menunjukkan persentase hidup yang berbeda nyata dibandingkan dengan planlet tanpa inokulasi MVA (NM), terutama pada percobaan yang tidak dilindungi dari serangan patogen (kontrol) (Gambar 3). Perlakuan perlindungan terhadap serangan patogen juga meningkatkan daya hidup walaupun tanpa inokulasi MVA. Pengaruh sterilisasi media tanah tidak nyata, tetapi planlet yang tumbuh pada media tanah yang disterilisasi (A) lebih baik daya hidupnya daripada planlet yang tumbuh pada media tanah tanpa sterilisasi (B).



Gambar 3. Pengaruh inokulasi MVA dan perlindungan dari serangan patogen terhadap persentase hidup planlet kelapa sawit yang ditumbuhkan pada media tanah yang disterilisasi (A) dibanding dengan yang ditumbuhkan pada media tanah yang tidak disterilisasi (B). Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada P = 0,05 dengan uji LSD.

Mikroriza Vesikuler Arbuskuler telah diketahui dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan berbagai tanaman hasil perbanyakan secara *in vitro* karena terjadinya peningkatan penyerapan hara dan pembentukan akar yang lebih baik (1,2). Selain itu, MVA juga dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangan patogen (6). Kolonisasi akar tanaman oleh MVA terbukti dapat ditemui di berbagai jenis tanah dan tanaman. Pengaruh positif dari kolonisasi tersebut adalah peningkatan pertumbuhan dan penyerapan

hara bagi tanaman terutama tanaman yang tumbuh di lahan yang miskin (9). Inokulasi MVA diketahui juga dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen tular tanah (7). MVA tidak hanya terlibat dalam mekanisme pertahanan tanaman terhadap patogen tular tanah tetapi juga dapat meningkatkan toleransi terhadap serangan patogen yang ada di tajuk. Walaupun demikian kesehatan tanaman bergantung pada genotipnya, bukan pada tingkat kolonisasi oleh MVA (4, 13). Selain bertujuan untuk meningkatkan persentase hidup planlet, inokulasi dengan MVA diharapkan dapat menekan serangan cendawan tular tanah *Ganoderma*.

Penerapan bioteknologi dengan penggunaan MVA pada tahapan adaptasi planlet terhadap lingkungan *ex-vitro* cukup meyakinkan untuk meningkatkan produksi planlet. Dengan inokulasi MVA daya hidup planlet dapat ditingkatkan 30 % (Gambar 3) bahkan dapat mencapai 100 % (Gambar 1). Penelitian selanjutnya akan ditujukan untuk mengisolasi dan mensterilkan spora MVA yang akan diinokulasi ke dalam tabung kultur pada tahap induksi perakaran, agar planlet yang dihasilkan telah mengandung spora MVA dalam akarnya.

KESIMPULAN

MVA secara umum sangat berperan dalam meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan planlet kelapa sawit yang diperbanyak melalui teknologi kultur jaringan. Dua jenis MVA dari genus *Acaulospora* merupakan MVA yang cocok dan efektif meningkatkan daya hidup planlet menjadi 91% dibandingkan dengan tanpa inokulasi yang hanya 62%. Planlet yang diinokulasi dengan MVA tanpa pemupukan P dan pemupukan P berupa hidroksilapatit menunjukkan persentase hidup yang berbeda nyata dengan kontrol masing-masing meningkat sebesar 41 % dan 43 %. Daya hidup planlet antara yang diinokulasi dengan tanpa inokulasi, dan keduanya dipupuk dengan Bayfolan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata, sedangkan planlet yang diinokulasi dengan MVA persentase hidupnya berbeda nyata dibandingkan dengan planlet tanpa inokulasi MVA, terutama pada percobaan yang tidak dilindungi dari serangan patogen (kontrol). Perlakuan perlindungan terhadap serangan patogen juga meningkatkan daya hidup walaupun tanpa inokulasi MVA.

Walaupun pengaruh sterilisasi media tanah tidak nyata, planlet yang tumbuh pada media tanah yang disterilisasi menunjukkan daya hidup yang lebih baik daripada planlet yang tumbuh pada media tanah tanpa sterilisasi. Penerapan inokulasi MVA pada tahap adaptasi planlet terhadap lingkungan luar sangat positif dalam meningkatkan daya hidup planlet. Penemuan ini diharapkan dapat mendorong usaha meningkatkan produksi planlet dalam jumlah besar dengan biaya yang lebih murah.

Langkah perbaikan untuk meningkatkan daya hidup planlet kelapa sawit pada tahap aklimatisasi adalah penambahan hara P, inokulasi MVA, sterilisasi media tumbuh, dan perlindungan dari serangan patogen tular udara dan tanah.

DAFTAR PUSTAKA

1. AZGON-AGUILAR C., M.CANTOS, A.TRONCOSO, J.M.BAREA.1997. Benefitial effect of arbuscular mycorrhizas on acclimatisation of micropropagated cassava plantlets. Scientia Horticulturae 72. 63-71

2. BERTA G., A. TROTTA, A. FUSCONI, J.E. HOOKER, M. MUNRO, D. ATKINSON, M.GIOVANETTI, S. MORINI, P. FORTUNA, B. TISSERANT, V. GIANINAZZI-PEARSON, and S. GIANINAZZI. 1995. Arbuscular mycorrhizal induced changes to plant growth and root system morphology in *Prunus cerasifera*. Tree Physiology 15: 281-293

3. BLAL, B.C. V. MOREL, V. GIANINAZZI–PEARSON, J.C. FARDEAU and S. GIANINAZZI. 1990. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on phosphate fertilizer efficiency in two tropical acid soils planted with micropropagated oil palm. Biol. Fertil. Soil 9:43-48.

4. DUGASSA, G.D., H. VON ALTEN and F. SCHONBECK. 1996. Effect of arbuscular mycorrhiza on health of *Linum usitassinum* L. infected by fungal pathogens. Plant and Soil 185:173-182.

5. FAO Stat Online. 1998. Statistical Data Base. http://apps.fao.org./default.htm

6. GUILLEMIN, J.P., S. GIANINAZZI, V. GIANI-NAZZI-PEARSON, J.MARCHAL. 1994. Contribution of arbuscular mycorrhizas to biological protection of micropropagated pineapple (*Ananas comosusa* (L.) Merr) against *Phytophtora cinnamomi* Rands. Agricultural Science in Finland 3:241-251

7. LINDERMAN, R.C. 1994. Role of VAM fungi in biocontrol. *In* Mycorrhizae and Plant Health. American Phytopathology Society Press. St. Paul. pp1-27.

8. NADARAJAH, P., and A. NAWAWI. 1993. Mycorrhiza status of epiphytes in Malaysian oil palm plantations. Mycorrhiza 4 : 21-25.

9. MARSCHNER, H. 1996. Mineral nutrient acquisition in nonmycorrhizal and mycorrhizal plants. Phyton Annales et Botanicae 36: 61-68.

10. PUTHUR J.T., K.V.S. PRASAD, P. SHARMILA, P. PARDHA SARADHI. 1998. Vesicular arbuscular mycorrhizal fungi improves establishment of micropropagated *Leucaena leucocephale* plantlets. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 53: 41-47

11. PUSPA, W. dan SUWANDI. 1990. Pemanfaatan mikoriza vesikula arbuskula pada perkebunan kelapa sawit. Bulletin Pusat Penelitian Perkebunan Marihat 10 (3): 5-13.

12. SUBHAN, S., P. SHARMILA, P. PARDHA SARADHI. 1998. *Glomus fasciculatum* alleviates transplantation shock of micro-propagated *Sesbania sesban*. Plant Cell Reports 17: 268-272

13. THOMAS , G.V. and S.K. GHAI. 1987. Genotype dependent variation in vesicular –arbuscular mycorrhizal colonization of coconut. Proc. of Indian Acad. Sci. 97: 289-294.

14. WIDIASTUTI, H. and J. S. TAHARDI. 1993. Effect of vesicular –arbuscular mycorrhizal inoculation on the growth and nutrient uptake of micropropagated oil palm. Menara Perkebunan 61(3): 56-60.

15. WIDIASTUTI, H. and K. KRAMADIBRATA. 1993. Identification of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi at selected oil palm estates on West Java. Menara Perkebunan 61(1): 13-19.

The role of (vesicular-) arbuscular mycorrhiza to improve the hardening of *in vitro* propagated oil palm plantlets to natural growth conditions

C. Schultz[1], Subronto, Sjafrul Latif, A.M. Moawad[2], and P.L.G.Vlek[1,2]

Abstract

In vitro *propagated oil palm have to be adapted to natural conditions. The acclimatization stage is the period after micropropagation under sterile condition and before transplanting to the nursery, plantlets subjected to severe environmental stress, due to poor root-shoot growth and reduced cuticular wax formation. The aim of this study was to investigate the effect of (V)AMF inoculation on survival rate of oil palm plantlets during acclimatization stage. Three experiments were conducted. The plantlets were inoculated with 12 different isolates of (V)AMF, the survival rate were determined twice a week. The plantlets were harvested after three months. Two (V)AMF species of genus* Acaulospora *had significant positive effect. Phosphate fertilizer had synergetic effect and protection from pathogens attack also increase the survival rate.*

Key words : *Elaeis guineensis, in vitro* propagation, (vesicular-) arbuscular mycorrhiza, *Acaulospora*

Introduction

Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) is one of the most important plantation crops in Indonesia and palm oil is one of the country's major economic products. In 1998, Indonesia produced 5.9 million tons of palm oil (5) and gained US $ 1,740,355,000 from its export. From 1989 to 1998 the area of oil palm in Indonesia was increased for about three times up to 1.8 million ha (5). There was a huge demand of improved planting material for the development of oil palm plantations during that period. Micropropagation of high yielding elite oil palms has increased as well in the last decade. This *in vitro* technique facilitates mass production of high-quality, homogeneous plant material.

One of the acute problems of oil palms multiplied by tissue culture is the survival rate of the young plants during acclimatization stage. In this sensitive stage, after micropropagation under sterile controlled conditions and before transplanting to the nursery, plants are subjected to severe environmental stress, due to poor root and shoot growth and less cuticular wax formation. The percentage of mortality was still high, about 30-40% during this phase. The use of (vesicular-) arbuscular mycorrhizal fungi ((V)AMF) could overcome this mortality problem in other crops, for instance in micropropagated cassava (1), pineapple (6), *Leucaena leucocephala* (10) and *Sesbania sesban* (12). The effect of (V) AMF on the acclimatization of oil palm plantlets to natural nursery conditions is reported in this paper.

Materials and Methods

Three greenhouse experiments were conducted at the Indonesian Oil Palm Research Institute (IOPRI) in Marihat from November 1997 to February 1998.

[1]Institute of Agronomy in the Tropics, Göttingen University, Germany
[2]Centre for Research and Developmnet (ZEF) Universitas Bonn, Germany

Experiment 1

This experiment was laid out as an initial screening of different (V)AMF isolates to test their effectiveness in improving the survival and development of the plantlets. Five oil palm clones were inoculated with 12 different mycorrhiza species (M1 - M12). No fertilizer was applied in this experiment. The number of replications for each treatment was 13, while the number of control plantlets without inoculation (NM) was 40.

Experiment 2

The plantlets were inoculated with four (V)AMF (M1 - M4), which were selected out from experiment 1. Three levels of phosphate fertilization were used:

PO : control, no phosphate fertilization
HA : medium, with Hydroxylapatite [$Ca_5(PO_4)_3OH$]
BAY: high, with a liquid complete foliar nutrient Bayfolan (N 11%, P_2O_5 8%, K 6%) which is used at IOPRI.

The number of replications for each treatment was 30 plantlets.

Experiment 3

The aim of experiment 3 was to investigate the influence of (V)AMF on plant survival to differentiate between mortality caused by pathogens. The plantlets were treated as follows:

a : inoculated with three selected (V)AMF (M1, M2, M3)
b : grown in sterilized (A) and unsterilized (B) soil
c = for protection, plantlets grew in special plastic bags (sun bag), or were covered with a topless plastic film, the control plantlets grew under normal conditions, without any protection.

The number of replications for each treatment was 10 plantlets.

The used of (V)AMF, all originating in the tropics, were obtained from the Institute of Agronomy in the Tropics (IAT), University of Göttingen, Germany.

At the beginning of acclimatization the oil palm plantlets were transplanted to polybags and directly inoculated with (V)AMF. The inoculum, a mixture of soil and roots with a density of 80 spores per pot, was placed close to the root system, at a soil depth of 5 cm. The experimental soil was a mixture of surface soil and sand of 2:1 (w/w) which is normally used at IOPRI. The pots were placed in the greenhouse with an average day/night temperature of 30/25 °C and 60-95 % of relative humidity. The plantlets were watered as required. The survival rates were determined twice a week. The plantlets were harvested after three months.

In all experiments the clones were equally distributed over the treatments. The experiments were conducted in a randomized complete block design. The data were analyzed for significant difference by LSD-test.

Results and Discussion

Experiment 1

Eleventh mycorrhiza isolates significantly increased the survival rate of oil palm plantlet, except M4 isolate (Fig. 1).

Two species of *Acaulospora* genus (M1. M2) were the most suitable and effective. the survival percentage of plantlet inoculated with these species was 91 % compared to 62 % of uninoculated plantlets. but there was not significant different among all inoculated plantlets. The result of this experiment was similar to the result obtained by Widiastuti and Tahardi (14) used 3 species of (V)AMF to improved the survival rate of 3 oil palm clones up to 100%. It was found that no interaction between oil palm clone species and (V)AMF. The difference of two experiments was at Widiastuti and Tahardi experiment (14) no significant different of *Acaulospora* species between inoculated and uninoculated treatments (control).

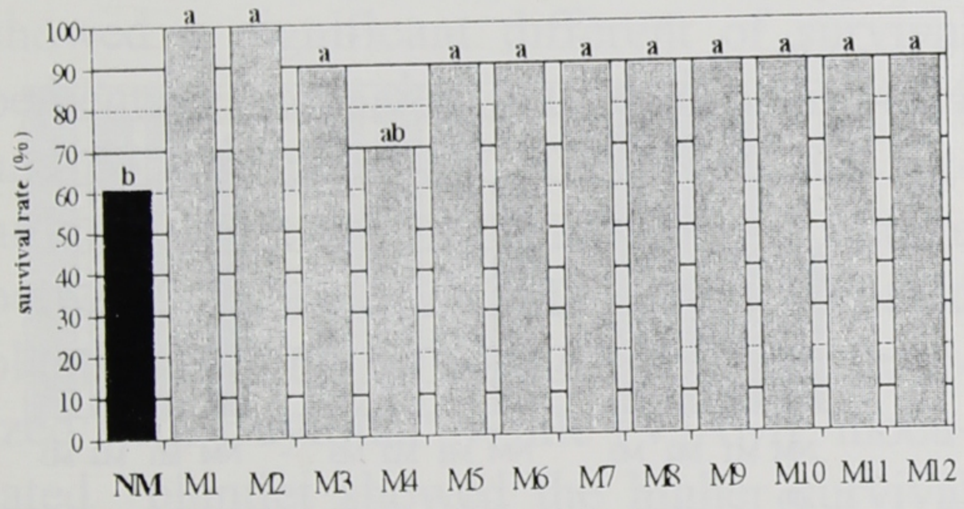


Figure 1. The effect of (V)AMF isolate (M1-M12) on the percentage of plantlet survival. The value followed by the same letter was not significant different at P=5% For LSD test. NM = Not inoculated

The result showed that there was the different of infection rate and effectiveness of (V)AMF used at acclimatization on the survival rate of plantlet. Each strain of (V)AMF has the different ability in improving the development and growth of inoculated plantlet. Symbiosis between (V)AMF and host plant was determined by soil fertility, plant host species, (V)AMF species and contamination from other mycorrhizas. In nature. plant was colonized by (V)AMF while all plants including media were sterile from (V)AMF and other bacteria in *in vitro* culture. During sterilization all microbial including the beneficial (V)AMF (probiotic) were killed. It was happen to *ex vitro* media.

There are 5 species of (V)AMF were found in the soil where oil palm is cultivated. One out of five species, is *Acaulospora* spp (11) and in West Java 3 species were found (15). In Malaysia 5 species of (V)AMF were found in oil palm area and also in the area where epifit plant (8). It has to be noticed that species and strain of (V)AMF showed the different rate of colonization at plant root, depend on the genetic background of both symbion and soil condition (13).

Experiment 2

The plantlet inoculated with (V)AMF (M) and without P fertilizer (PO) and hydroxylapatite P fertilizer (HA) showed the significant different of survival percentage to control (NM) (Fig. 2). The plantlet survival was increased 41% at PO treatment and 43% at HA treatment, while mycorrhiza inoculation increased plantlet survival almost 91%. Fertilization with Bayfolan was not significantly different between inoculated (M) and uninoculated (NM). Blal *et al* (3) had tried to see the effect of (V)AMF on the TSP and RP absorption efficiency by oil palm plantlet grown at two different fixated P in Ivory Coast. Plantlet with and without (V)AMF inoculation absorb P from fertilized soil. At green house experiment using oil palm plantlet grown at ultisol soil showed (V)AMF inoculated will improve plantlet growth and increased P, K, Ca and Mg absorption (13).

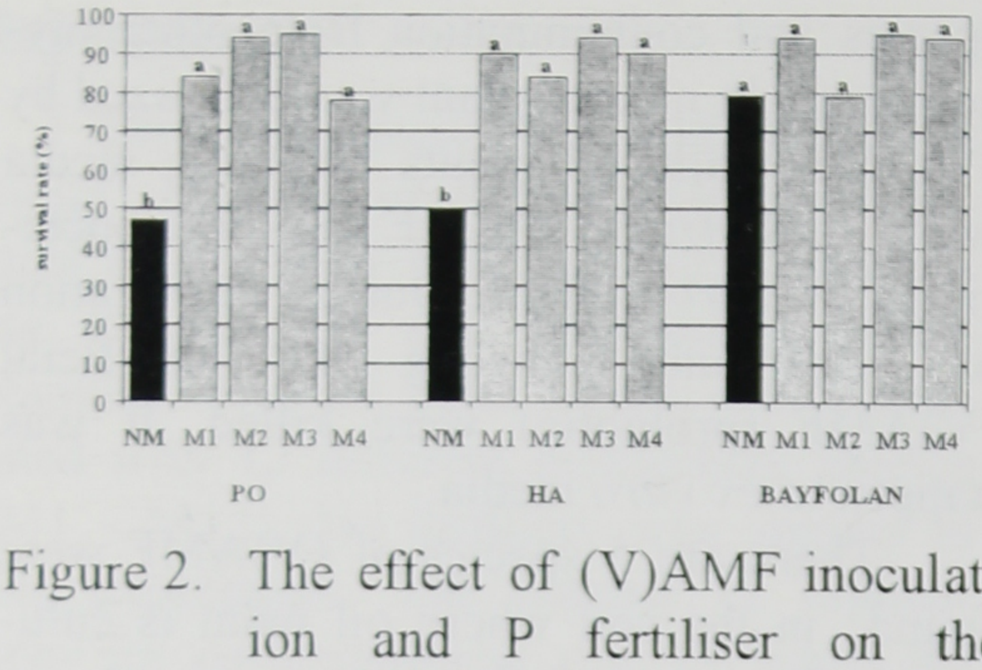


Figure 2. The effect of (V)AMF inoculation and P fertiliser on the survival rate of oil palm plantlet. The number followed by the same letter was not significantly different for P=0.05 with LSD test.

Experiment 3

Almost all plantlets inoculated with (V)AMF (M) of experiment 3 showed a significant different of survival percentage compared to non inoculated plantlet (NM), particularly on the plantlet without protected from pathogen attack (control) (Figure 3). The treatment which is protected from pathogen also improve the survival rate although without (V)AMF inoculated. The effect of soil media sterilization was not significant, but plantlet that grown on sterilized soil (A) gave a better survival rate compared with plantlet grown on unsterilized soil media (B).

(V)AMF has already proved to improve the growth and development of plantlet derived from *in vitro* technique of many plant species, since (V)AMF could improve nutrient absorption and root formation (1, 2). Besides, (V)AMF also improve resistant to pathogen attack (6). Plant root colonized by (V)AMF has proved in many soil type and plant species. The positive effect of (V)AMF colonization was to improve the growth and nutrient uptake by plant especially the plant growth at poor soil (9). (V)AMF inoculation also improve plant resistance to soil borne pathogen (7). (V)AMF is not only involve in the mechanism of plant resistance to soil borne pathogen but also to improve the resistance to air borne pathogen at the crown. The plant health is depend on its genotype and not depend on the rate of (V)AMF colonization (4, 13). (V)AMF inoculation is not only to improve the survival rate of plantlet but also expected to suppress the attack of *Ganoderma* soil borne fungus.

The application of biotechnology such as the use of VAM at adaptation stage of plantlet ex vitro to the environment was satisfied to increase the plantlet production. The plantlet survival rate was increased from 30% (Figure 3) to 100% (Figure 1) by the application of (V)AMF.

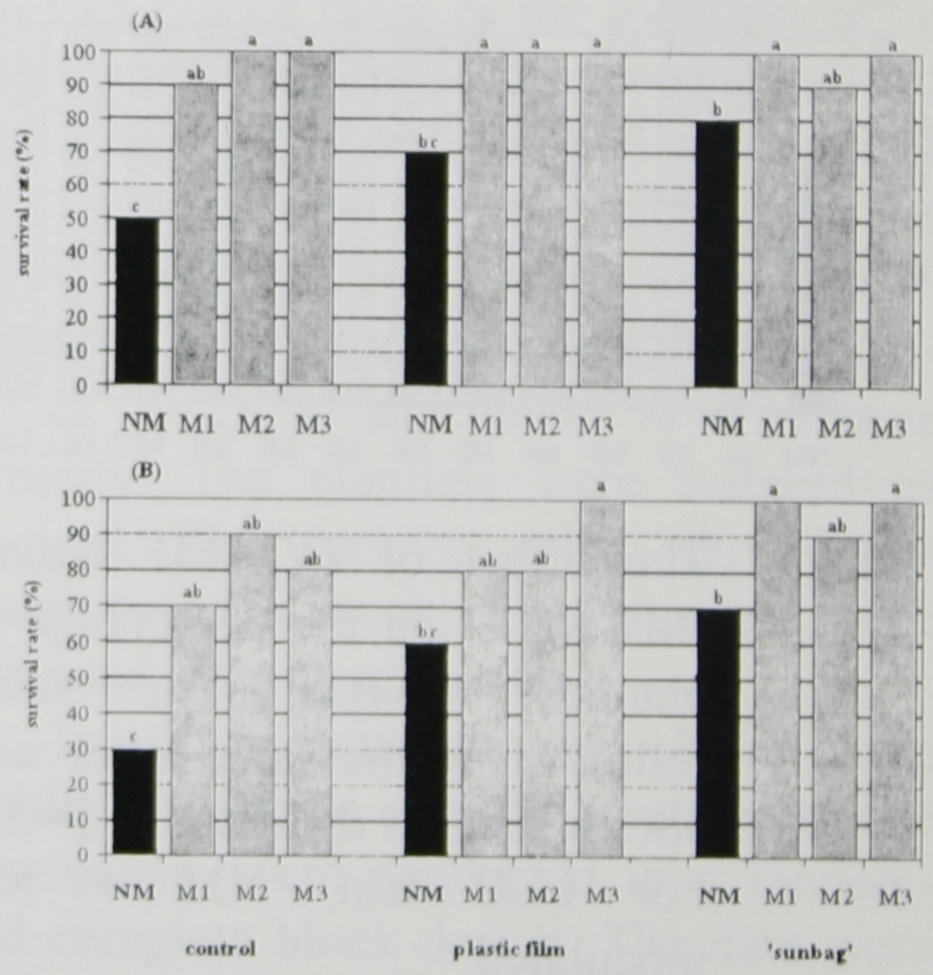


Figure 3. The effect of (V)AMF inoculation and the protection from patogen attack on the percentage oil palm plantlet survival grown at soil sterilised media (A) compared to non sterilised soil media (B). The number followed with the same letter was not significantly different at P=0.05 LSD test.

The further experiment was directed for isolation and sterilization of (V)AMF spore to be inoculated in the test tube for root induction stage and therefore the root of plantlet produced will be infected by (V)AMF.

Conclusions

(V)AMF in general, has an important role in improving the growth and development of oil palm plantlet derived through tissue culture propagation technique. Two (V)AMF type of genus *Acaulospora* were suitable and effective to improve the survival rate of plantlet to 91% compared to 62% of non-inoculated plantlet. Plantlet which is inoculated with (V)AMF and with or without P fertilizer like hidroxylapatite showed a significant different of survival percentage compared with control by 41% and 43% respectively. There was not significant different of survival percentage between inoculated and non-inoculated plantlet as long as both of them are fertilized with Bayfolan. While (V)AMF inoculated plantlet showed the higher survival rate than that of non-inoculated plantlet, particularly for the treatment without protected from pathogen attack (control). The protected treatment from pathogen also improve the survival rate although without (V)AMF. Although the effect of soil media sterilization was not significant, plantlet which is grown in sterilized soil media showed the better survival rate compared to plantlet which grown in non sterile soil media. The application of (V)AMF inoculation to plantlet at adaptation stage to *ex vitro* environment has a positive effect in improving plantlet survival rate. This result will encourage the production of plantlet at commercial level with lower cost.

References

1. AZGON-AGUILAR C., M.CANTOS, A.TRONCOSO, J.M.BAREA.1997. Benefitial effect of arbuscular mycorrhizas on acclimatisation of micropropagated cassava plantlets. Scientia Horticulturae 72: 63-71.
2. BERTA G., A. TROTTA, A. FUSCONI, J.E. HOOKER, M. MUNRO, D. ATKINSON, M.GIOVANETTI, S. MORINI, P. FORTUNA, B. TISSERANT, V. GIANINAZZI-PEARSON, and S. GIANINAZZI. 1995. Arbuscular mycorrhizal induced changes to plant growth and root system morphology in *Prunus cerasifera*. Tree Physiology 15: 281-293
3. BLAL, B.C. V. MOREL, V. GIANINAZZI–PEARSON, J.C. FARDEAU and S. GIANINAZZI. 1990. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on phosphate fertilizer efficiency in two tropical acid soils planted with micropropagated oil palm. Biol. Fertil. Soil 9:43-48.
4. DUGASSA, G.D., H. VON ALTEN and F. SCHONBECK. 1996. Effect of arbuscular mycorrhiza on health of *Linum usitassinum* L. infected by fungal pathogens. Plant and Soil 185:173-182.
5. FAO Stat Online. 1998. Statistical Data Base. http://apps.fao.org./default.htm
6. GUILLEMIN, J.P., S. GIANINAZZI, V. GIANINAZZI-PEARSON, J.MARCHAL. 1994. Contribution of arbuscular mycorrhizas to biological protection of micropropagated pineapple (*Ananas comosusa* (L.) Merr) against *Phytophtora cinnamomi* Rands. Agricultural Science in Finland 3:241-251
7. LINDERMAN, R.C. 1994. Role of VAM fungi in biocontrol. *In* Mycorrhizae and Plant Health. American Phytopathology Society Press. St. Paul. pp1-27.
8. NADARAJAH, P. and A. NAWAWI. 1993. Mycorrhiza status of epiphytes in Malaysian oil palm plantations. Mycorrhiza 4 : 21-25.
9. MARSCHNER, H. 1996. Mineral nutrient acquisition in nonmycorrhizal and mycorrhizal plants. Phyton Annales et Botanicae 36: 61-68.
10. PUTHUR J.T., K.V.S. PRASAD, P. SHARMILA, P. PARDHA SARADHI. 1998. Vesicular arbuscular mycorrhizal fungi improves establishment of micropropagated *Leucaena leu-*

cocephale plantlets, Plant Cell, Tissue and Organ Culture 53: 41-47

11. PUSPA, W. dan SUWANDI. 1990. Pemanfaatan mikoriza vesikula arbuskula pada perkebunan kelapa sawit. Bulletin Pusat Penelitian Perkebunan Marihat 10 (3): 5-13.

12. SUBHAN, S., P. SHARMILA, P. PARDHA SARADHI. 1998. *Glomus fasciculatum* alleviates transplantation shock of micropropagated *Sesbania sesban*. Plant Cell Reports 17: 268-272

13. THOMAS , G.V. and S.K. GHAI. 1987. Genotype dependent variation in vesicular –arbuscular mycorrhizal colonization of coconut. Proc. of Indian Acad. Sci. 97: 289-294.

14. WIDIASTUTI, H. and J. S. TAHARDI. 1993. Effect of vesicular –arbuscular mycorrhizal inoculation on the growth and nutrient uptake of micropropagated oil palm. Menara Perkebunan 61(3): 56-60.

15. WIDIASTUTI, H. and K. KRAMADIBRATA. 1993. Identification of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi at selected oil palm estates on West Java. Menara Perkebunan 61(1): 13-19.

ooOoo