

ABSTRACT

There are issues such as long maturation period, variable starch quality and lack of quality planting material that makes investors have less interest in commercial scale sago planting. Genetic transformation system for sago palm has the potential to improve the characteristic which would maximized yield per Ha and subsequently attract more investors. Therefore this study was aimed to optimized sago genetic transformation system in order to improve the characteristic of existing sago palm and to develop a suspension culture system to support mass production of sago clonal planting material. This study consists of development of sago palm suspension culture, determination of minimal inhibitory concentration of Basta™ on sago, development of sago transformation system via *Agrobacterium* and gene gun. The suspension culture of sago palm was successfully propagated using 4.5-15 gram of inoculum in every litre of media containing 0.18-1.8 mg/l NAA and 1-1.5 mg/l 2, 4-D. The propagated cells are ready for transformation after 3 months cycle. The minimal inhibitory concentration of Basta™ for sago palm was determined at 30 mg/l. The genetic transformation of sago target tissues derived from suspension culture was conducted using two methods; the *Agrobacterium tumefaciens* strain LB4404 containing plasmid vector pGSA1131 and the Biorad™ Helios Gene Gun System. The putative transgenic embryoids were selected through Basta™ selection process using media containing minimum concentration of Basta™ at 30 mg/l. The presence of *bar* and *gus* genes in selected regenerated callus were verified by PCR amplification, GUS staining analysis and dot blot analysis. From this study it is proven that

the most suitable plant material for transformation is the embryogenic callus (D0E/EC) compared to embryoid stage (D1 and D2) and early formation of plantlets (D3) for both methods. As for the high sugar treatment during and after infection, the wounding using gold particle bombardment and the sonication treatment on the target cells had also proven able to increase the efficiency of the transformation via *Agrobacterium*. The transformation using Helios Gene Gun showed a higher transformation rates when target tissues at embryogenic stage (D0E/EC) were bombarded with 280psi of helium pressure at 6 to 8 cm of distance and with the number of firing once and twice of bombardment.

Pembangunan sistem kultur ampaian sagu dan penentuan parameter optimum untuk sistem transformasi genetik kultur sagu (Metroxylon sagu Rottb.).

ABSTRAK

Beberapa isu berkenaan pokok sagu seperti tempoh matang yang lama, kualiti kanji yang tidak konsisten dan kekurangan bahan tanaman berkualiti tinggi telah menyebabkan pengusaha tanaman kurang berminat untuk melabur dalam pembukaan lading sagu. Maka kajian ini dilakukan untuk menyediakan satu kaedah untuk menambahbaik sifat pokok sagu dan mengatasi isu-isu tersebut secara transformasi genetik. Selain itu kajian ini juga bertujuan untuk membangunkan satu sistem kultur ampaian sagu yang boleh menghasilkan pokok sagu secara skala besar. Kajian ini merangkumi pembangunan kultur ampaian sagu, penentuan kepekatan minimum untuk tindakan Basta™ ke atas sagu, pembangunan sistem transformasi genetik sagu menggunakan Agrobacterium dan alat penembak gen. Kultur ampaian untuk tanaman sagu telah berjaya dipropagasikan dengan menggunakan sel permulaan sebanyak 4.5-15 gram untuk setiap liter media yang mengandungi 0.18-1.8 mg/l NAA dan 1-1.5 mg/l 2,4-D. Sel-sel sagu dari kultur ampaian ini bersedia untuk digunakan sebagai sasaran untuk transformasi genetik setelah melalui kitaran selama 3 bulan. Kepekatan minimum untuk tindakan Basta™ ke atas sel sagu ialah 30 mg/l. Transformasi genetik ke atas kalus sagu yang embriogenik dilakukan menggunakan Agrobacterium tumefaciens strain LB4404 yang membawa vektor plasmid pGSA1131 dan juga alat penembak gen (Biorad™ Helios Gene Gun). Embroid sagu yang dianggap transgenik akan mampu untuk hidup di atas media yang mengandungi Basta™ dengan kepekatan minimum 30 mg/l. Kehadiran gen bar dan gus di dalam embroid-

embroid tersebut akan dipastikan melalui beberapa analisis seperti amplifikasi PCR, pewarnaan *gus* and analisis dot blot. Eksperimen ini juga menunjukkan bahawa jenis bahan tanaman sagu yang sesuai untuk proses transformasi adalah daripada peringkat kalus embriogenik (D0E/EC). Kesesuaian ini dibandingkan untuk kedua-dua kaedah transformasi dengan penggunaan kalus halus (D0C), peringkat embriod (D1 and D2) dan peringkat permulaan plantlet (D3). Kesan gula yang tinggi semasa dan selepas infeksi *Agrobacterium*, kesan kecederaan oleh partikel emas menggunakan alat penembak gen serta rawatan sonik ke atas sel sagu telah memberikan pengaruh yang positif ke atas keberkesanan proses transformasi menggunakan *Agrobacterium*. Transformasi menggunakan alat penembak gen menunjukkan kadar keberkesanan yang lebih tinggi apabila sel sagu ditembak dengan menggunakan tekanan gas helium sebanyak 280 psi pada jarak tembakan 6 ke 8 cm dan dengan 1 ke 2 kali tembakan.