

PERKEMBANGAN TEKNIK KULTUR JARINGAN KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.)

Yohannes MS Samosir dan Gale Ginting

ABSTRAK

Perkembangan teknologi kultur jaringan kelapa sawit pada dekade terakhir ini agak lambat terutama karena informasi tentang prosedur-prosedur yang tersedia banyak yang tidak disebarluaskan untuk menjaga rahasia perusahaan. Karena itu, penelitian yang intensif perlu dilakukan karena frekuensi perbanyakan kalus dan regenerasi planlet sangat rendah dan seringkali tidak konsisten. Integrasi antara teknik suspensi sel yang lebih baik dengan penggunaan bioreaktor dalam prosedur diharapkan dapat mengatasi masalah tersebut yaitu meningkatkan perbanyakan dalam waktu yang singkat.

Abnormalitas pada bunga sebagai akibat adanya variasi somaklonal merupakan salah satu kendala dalam pengembangan kultur jaringan kelapa sawit secara komersial. Penelitian untuk mengatasi fenomena ini telah dimulai tetapi masih sedikit yang diketahui. Karena itu, perlu dikembangkan suatu teknik deteksi yang dapat dipercaya seperti penanda molekuler untuk menapis planlet yang dihasilkan sebelum ditanam ke tanah dan memonitor hasil perbanyakan.

Kata kunci : abnormalitas, klon, *Elaeis guineensis*

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) termasuk tanaman perkebunan penting di dunia. Di tempat asalnya, Afrika Barat, tanaman ini mulanya diusahakan oleh rakyat sedangkan pengusahaan dengan manajemen perkebunan dimulai di Sumatera, Indonesia (18). Malaysia dan Indonesia saat ini merupakan penghasil utama minyak kelapa sawit dunia.

Upaya perbaikan dan perbanyakan bahan tanaman kelapa sawit, sebagaimana tanaman tahunan lainnya, memerlukan waktu lama sehingga aplikasi teknik kultur jaringan merupakan alternatif yang sangat diharapkan. Hingga saat ini penelitian untuk pengembangan teknik kultur jaringan kelapa sawit masih terpusat pada perbaikan, walaupun terdapat beberapa peneli-

tian untuk mengembangkan teknik perbaikan material seperti kultur protoplas, kultur haploid dan sidik genetik tingkat molekuler (DNA). Menurut Corley (8) peningkatan produksi sebesar 60% dapat diperoleh jika pohon-pohon elit (5% dari populasi) diperbanyak secara kultur jaringan. Kenyataan di lapangan, peningkatan produksi sebesar 15% hingga 29% telah diperoleh dengan menggunakan bibit asal kultur jaringan dari pohon terpilih (14, 16). Peningkatan ini terutama disebabkan tanaman asal kultur jaringan, sebagai klon, lebih seragam dibandingkan populasi asal biji. Walaupun penelitian kultur jaringan kelapa sawit telah dimulai sejak tahun 1970-an, informasi rinci tentang teknik yang digunakan sangat terbatas karena potensi industri bibit secara komersial sangat besar. Hingga tahun 1990 terdapat paling tidak 12 laboratorium (7),

dua di antaranya di Indonesia (PPKS dan PT.Socfindo) yang memproduksi bibit kelapa sawit secara kultur jaringan. Namun secara umum komersialisasi bibit hasil kultur jaringan ini terhambat dengan dilaporkannya pembungaan yang abnormal (20).

Tulisan ini mengulas perkembangan penelitian untuk membahas kemungkinan pengembangan teknik kultur jaringan kelapa sawit.

EKSPLAN

Pemilihan bagian tanaman sebagai eksplan merupakan hal yang sangat penting untuk mengoptimalkan proses embriogenesis somatik dan regenerasi tanaman. Sebagai tanaman monokotil tahunan, bagian dari pohon kelapa sawit yang dapat digunakan sebagai eksplan sangat terbatas. Jumlah pohon yang terseleksi di lapangan juga terbatas sehingga diperlukan prosedur isolasi di lapangan yang nondestruktif.

Semua bagian tanaman yang mungkin digunakan sebagai eksplan dalam kultur jaringan kelapa sawit telah diteliti hingga 1985. Akar merupakan bagian yang mudah diperoleh dengan tingkat kerusakan yang relatif kecil terhadap tanaman. Akan tetapi, akar sangat sulit disterilisasi (30). Berbeda dengan akar, bagian pucuk tanaman atau jaringan daun muda yang masih terbalut daun-daun yang belum terbuka, lebih mudah disterilisasi, sedangkan jaringan bunga atau *inflorescence* muda yang masih terbungkus seludang dapat digunakan tanpa sterilisasi (7).

Embrio zigotis dan bibit muda yang ditumbuhkan dalam kondisi steril masih juga kadang-kadang digunakan sebagai eksplan, khususnya sebagai model dalam pengembangan teknik (32, 33). Hal ini karena respon yang lebih cepat dan terhindar dari kontami-

nasi mikro-organisme. Akan tetapi untuk tujuan komersil, eksplan dari tanaman menghasilkan yang telah diseleksi lebih dapat dipertanggungjawabkan.

Tahapan perkembangan mikrospora kelapa sawit telah diteliti (22), namun kultur jaringan yang menggunakan polen kelapa sawit sebagai eksplan belum pernah dilaporkan.

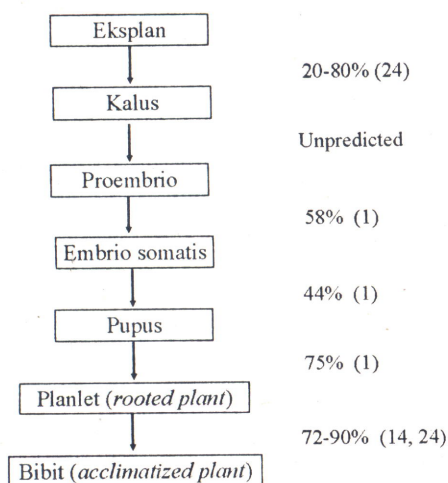
EMBRIOGENESIS SOMATIK

Regenerasi bibit atau planlet kelapa sawit dengan teknik kultur jaringan adalah melalui proses embriogenesis somatik tidak langsung (*indirect somatic embryogenesis*). Hal ini terbukti dari hasil pengamatan histologis pada proses pembentukan kalus dan embrio somatik (29). Dalam proses ini jaringan atau sel pada eksplan mengalami dediferensiasi membentuk kalus yang selanjutnya berdiferensiasi untuk membentuk embrio somatik. Ada dua tipe kalus kelapa sawit, yaitu *nodular compact callus* (NCC) dan *fast growing callus* (FGC). Kedua tipe kalus ini dapat menghasilkan embrio somatik, namun diduga embrio somatik yang berasal dari FGC akan menghasilkan tanaman dengan bunga abnormal (15). Hingga kini belum ada laporan yang menunjukkan regenerasi melalui embriogenesis somatik langsung (*direct somatic embryogenesis*) atau organogenesis.

Pada prinsipnya regenerasi melalui tahapan kalus mempunyai resiko mutasi lebih besar dengan terjadinya variasi somaklonal pada tahap kalus, terutama bila propagasi terjadi pada tahap kalus. Risiko mutasi secara teoritis relatif lebih kecil pada kelapa sawit, karena menurut Noiret *et al.*, (24) proses propagasi terjadi pada tahap embrio, yaitu terbentuknya embrio somatik primer dan embrio sekunder. Proses ini dapat terjadi dengan atau tanpa hormon tumbuh, namun

media untuk menginduksi kalus memerlukan auksin (7). Untuk menghindari atau mengurangi risiko timbulnya variasi somaklonal, maka kalus tipe FGC perlu disingkirkan di laboratorium. Dalam prakteknya, pemisahan kalus tipe FGC dari kalus tipe NCC sangat sulit dilakukan, khususnya pada tahap dini karena keduanya sangat mirip bentuknya (1). Pada kelapa sawit, kalus pertama yang terbentuk adalah tipe NCC, tetapi dengan semakin bertambahnya umur kalus dan subkultur yang berulang, maka kemudian timbul kalus tipe FGC. Karena itu tidak ada bagian dari eksplan yang spesifik menghasilkan kalus tipe NCC atau FGC. Pada tanaman tebu misalnya, terdapat kecenderungan bahwa semakin jauh posisi eksplan dari titik tumbuh dan tangkai daun, semakin banyak kalus yang terbentuk tidak berpotensi berkembang menjadi embrio somatik (17).

Perbanyakan tanaman melalui embriogenesis somatik dapat menjadi proses yang efisien jika indeks multiplikasinya tinggi. Akan tetapi efisiensi proses ini kelihatannya masih relatif rendah pada kelapa sawit. Efisiensi regenerasi melalui proses embriogenesis somatik pada kelapa sawit dapat digambarkan sebagai berikut :



Respon eksplan membentuk kalus sangat bervariasi (20-80%) bergantung pada umur fisiologi (24, 23), dan genotipe (23, 27). Kuantitas kalus yang terbentuk per eksplan belum pernah dilaporkan. Menurut Noiret *et al.*, (24) hanya sebagian kecil kalus yang berkembang membentuk embrio somatik.

Banyak faktor lingkungan dalam tabung kultur yang menyebabkan rendahnya efisiensi ini, mencakup gradien konsentrasi nutrisi dan hormon tumbuh dalam satu *clump* kalus di media padat. Bagian yang jauh dari media mendapat nutrisi dan hormon yang lebih sedikit dibandingkan dengan bagian kalus yang kontak langsung dengan media. Mengingat perbedaan tahapan-tahapan yang sangat jelas pada kultur jaringan kelapa sawit mulai dari pembentukan kalus hingga perakaran, maka perlu adanya prinsip homogenitas dalam *clump* pada setiap tahap untuk mendapatkan pertumbuhan dan perkembangan yang sinkron dan efisien (31).

Salah satu upaya untuk mengurangi perbedaan gradien konsentrasi dalam *clump* adalah dengan memecahkannya menjadi bongkahan yang kecil sehingga bagian permukaan yang kontak langsung dengan media meningkat. Pendekatan ini juga mengurangi persaingan ruang untuk tumbuh terutama kalus atau embrio somatik pada lapisan dalam. Akan tetapi ukuran *clump* yang optimal perlu diteliti karena ukuran yang terlalu kecil mungkin dapat menghambat pertumbuhan. Hal ini dikaitkan dengan kemungkinan adanya senyawa perangsang yang dilepaskan oleh sel-sel ke media yang dapat merangsang pertumbuhan dan perkembangan, seperti halnya pada *Daucus carota* (13). Cara lain untuk meningkatkan efisiensi adalah dengan menggunakan teknik kultur suspensi.

KULTUR SUSPENSİ

Berbeda dengan teknik kultur jaringan

yang biasanya menggunakan media padat, kultur suspensi menggunakan media cair dengan sistem aerasi baik dengan bantuan *shaker* maupun pompa udara. Untuk tujuan mikropropagasi, kultur suspensi biasanya digunakan pada satu atau dua tahap saja, yaitu perbanyakan dan diferensiasi awal. Tahap maturasi embrio dan regenerasi dilakukan dengan memakai media padat. Media cair juga dapat digunakan untuk memperbanyak pucuk, seperti pada *Stevia rebaudiana* (3). Beberapa keunggulan teknik kultur suspensi termasuk kontak media dengan inokulum lebih luas, pembentukan lini sel memungkinkan pertumbuhan dan perkembangan yang lebih sinkron, indeks multiplikasi sangat besar dan pemisahan pupus atau *planlet* dari *chump* menjadi tidak perlu atau minimal. Kultur suspensi telah terbukti memberikan konversi yang lebih efisien pada berbagai spesies tanaman seperti *Picea glauca* (4), *Cantharanthus roseus* (21) dan *Daucus carota* (26).

Waktu untuk menggandakan sel-sel dalam kultur suspensi kelapa sawit hanya 7 hari (32) sedangkan pada media padat diperlukan 30- 40 hari (30, 34). Penelitian untuk mengoptimalkan kultur suspensi kelapa sawit masih sangat perlu dilakukan karena konversi dari embrio somatik menjadi *planlet* masih sangat rendah (18%), akan tetapi pemisahan dari *chump* tidak diperlukan (12). Optimalisasi proses ini akan memungkinkan perbanyakan dalam skala besar dengan memakai bioreaktor. Salah satu aspek yang penting diteliti adalah tingkat perkembangan kalus atau embrio somatik yang masih dapat beradaptasi terhadap media cair. De Touchet *et al.* (12). melaporkan bahwa embrio somatik kelapa sawit yang telah dewasa dalam media cair gagal berkembang pada tahapan selanjutnya dalam media padat.

KULTUR PROTOPLAS

Kultur protoplas (sel tanpa dinding sel) merupakan teknik yang dapat memacu bioteknologi dengan hibridisasi somatik, induksi mutasi dan rekayasa genetika. Kultur protoplas digunakan sebagai teknik untuk memperbaiki kualitas bahan tanaman dan bukan untuk perbanyakan. Faktor kesulitan dalam teknik ini adalah sering terjadinya kegagalan meregenerasi tanaman lengkap walaupun protoplas yang hidup telah dapat diisolasi.

Kultur protoplas kelapa sawit telah mulai diteliti sejak tahun 1984 (6), akan tetapi hingga saat ini belum ada tanaman yang diregenerasi dari protoplas. Efisiensi isolasi protoplas pada kelapa sawit cukup tinggi (92%), yaitu dengan memakai campuran enzim selulase, driselase dan pektolase (28). Juga telah dilaporkan protoplas kelapa sawit mampu membentuk kembali dinding sel dengan memakai teknik *nurse medium*, yaitu menggunakan dua jenis medium yang berbeda konsentrasi glukosanya dalam satu sistem (6).

STABILITAS GENETIK KLON

Secara teoritis bibit asal kultur jaringan akan tumbuh homogen di lapangan. Akan tetapi timbulnya variasi somaklonal di lapangan, walaupun hanya dalam jumlah kecil, menjadi penghambat aplikasi teknik kultur jaringan secara komersil, terutama pada tanaman keras tahunan. Kelapa sawit tidak terlepas dari masalah ini dengan dilaporkan-nya pembungaan yang abnormal (11, 14).

Abnormalitas ini beragam, misalnya stamen berubah wujud menjadi jaringan seperti karpel ataupun terbentuknya karpel tambahan, polen gagal terbentuk. Abnormalitas ini menyebabkan gagalnya polinasi, buah mantel dan aborsi.

Isu abnormalitas ini masih merupakan masalah yang serius walaupun persentasenya di lapangan sangat rendah yaitu: 0% (15); 1,8% (10); 3,1% (14). Akan tetapi pada klon tertentu abnormalitas dapat terjadi dengan frekuensi yang sangat tinggi hingga 95% (11). Kecurigaan terhadap klon kelapa sawit mungkin juga karena belum diketahuinya mekanisme variasi dan pemakaian hormon tumbuh dalam proses kultur jaringan. Ada beberapa klon yang secara konsisten menunjukkan fenomena abnormal dan dalam satu genotipe sebagian lini sel menghasilkan tanaman yang abnormal (20).

Penyebab terjadinya abnormalitas pada klon kelapa sawit belum diketahui. Mutasi dalam tingkat kromosom kelihatannya bukan penyebab variasi karena Corley *et al.*, (9) melaporkan jumlah kromosom yang tetap pada klon. Sel-sel yang poliploid dan aneuploid terdapat pada FGC (30) tetapi sel-sel ini gagal membentuk embrio somatik (9). Penelitian untuk mengungkapkan variasi pada tingkat gen (DNA) dengan teknik molekuler telah mulai dilakukan terutama untuk pemuliaan (19). Marker DNA untuk menunjukkan perbedaan klon kelapa sawit yang normal dan abnormal belum ditemukan dan menurut Cheah, (komunikasi pribadi) PORIM, Malaysia sedang memulai penelitian untuk mengembangkan teknik ini. Teknik RAPD (*random amplified polymorphic DNA*) untuk mengidentifikasi variasi somaklonal telah dikembangkan untuk berbagai spesies tanaman seperti *Saccharum* spp. (25), *Paspalum notatum* (2) dan *Populus deltoides* (35). Dengan teknik ini abnormalitas dapat dideteksi pada tahap awal atau sebelum bibit asal kultur jaringan ditanam di lapangan.

Hormon tumbuh yang diberikan pada media untuk merangsang pembentukan kalus dan perkembangannya menjadi planlet merupakan penyebab variasi yang paling

umum pada kultur jaringan. Karena pemberian hormon tumbuh ini umumnya merupakan keharusan pada kultur jaringan, maka faktor konsentrasi dan waktu menjadi variabel yang perlu diteliti. Klon kelapa sawit hasil proses awal mempunyai pembungaan yang normal sedangkan klon dengan masa kultur lebih lama menunjukkan pembungaan yang abnormal (11). Karena itu upaya untuk meningkatkan indeks multiplikasi dengan memperlama masa kultur atau menambah siklus kultur memberikan resiko mutasi yang lebih besar.

KESIMPULAN

Teknik kultur jaringan kelapa sawit yang telah dimiliki selama ini ternyata kurang efisien, karena indeks multiplikasi jaringan sejak kalus hingga planlet cukup rendah dan tidak konsisten. Karena itu, telah dikembangkan teknik suspensi sel dan bio-reaktor untuk meningkatkan indeks multiplikasi dan diferensiasi jaringan sehingga meningkatkan jumlah planlet yang dihasilkan.

Masalah abnormalitas pembungaan pada klon kelapa sawit masih belum dapat diselesaikan dengan tuntas dan pada saat ini telah dilakukan penelitian-penelitian melalui pendekatan teknik identifikasi sidik gen atau *molecular marker* pada tahap dini. Apabila masalah ini telah dapat diatasi maka produksi planlet pada skala industri akan dapat direalisasikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. ABDULLAH and H. A. AZIZ. 1989. Factors affecting somatic embryogenesis in oil palm tissue culture. PORIM International Palm Oil Development Conference: 101 - 108.
2. AKASHI R and T. ADACHI. 1994. Morphological variations and RAPD markers of regenerants derived from cell suspension of bahagrass (*Paspalum notatum*). Proceedings SABRAO 7th International Congress and WSAA Symposium held at Academia Sinica, Taiwan. November 1993 Vol. II:415-425, 16-20.

3. AKITA, M., T. SHIGEOKA, Y. KOIZUMI and M. KAWAMURA. 1994. Mass propagation of shoots of *Stevia rebaudiana* using a large scale bioreactor. *Plant Cell Reports* 13: 180-183.
4. ATTREE, S.M., M. K. PAMEROY and L.C. FOWKE. 1994. Production of vigorous, desiccation tolerant white spruce (*Picea glauca* Moench Voss) synthetic seeds in a bioreactor. *Plant Cell Reports* 13: 601-606.
5. BAUDOUIN, L. 1992. Utilization of molecular markers for oil palm improvement. Protein markers. *Oleagineux* 47(12): 681-691.
6. BASS, A and W. HUGHES. 1984. Conditions for isolation and regeneration of viable protoplast of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). *Plant Cell Reports* 3(5): 169-171.
7. CHOO, W.K. 1990. Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) tissue culture and micropropagation. In Y.P.S. Bajaj (ed) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol.10. Legumes and oilseed Crops. Springer-Verlag, Berlin.
8. CORLEY, R.H.V. 1982. Clonal planting material for oil palm industry. *Planter* 58: 515-528.
9. CORLEY, R.H.V., K.C. WOOL and C.Y. WONG. 1979. Progress with vegetative propagation of oil palm. *Planter* 55: 377-380.
10. CORLEY, R. H. V., C.Y. WONG, K.C. WOOL and L.H. JONES. 1981. Early results from the first oil palm clone trials. In *The oil palm in Agriculture in the eighties* Vol.1. 173-196. Incorporated Society of Planters, Kuala Lumpur, Malaysia.
11. CORLEY, R.H.V., C.H. LEE, I.H. LAW and C.Y. WONG. 1986. Abnormal flower development in oil palm clones. *Planter*, Kuala Lumpur 62: 233-240.
12. DE TOUCHET, B., Y. DUVAL and C. PANNETIER. 1991. Plant regeneration from embryogenic suspension cultures of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). *Plant Cell Reports* 10:529-532.
13. DE VRIES, S. C., H. BOOIJ, P. MEYERINK, G. HUISMAN, H.D. WILDE, T.L. THOMAS and VAN KAMMEN AB. 1988. Acquisition of embryogenic potential in carrot cell-suspension cultures. *Planta* 176:196-204.
14. DURAND, G. T., V. GUEN, K. KONAN, Y. DUVAL and V. LEGUEN. 1990. Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) plantation in Ivory Coast obtained through *in vitro* culture. First results. *Proceedings International Conference on Palms and Palm Products*. NIFOR, Benin. *Oleagineux* 43(1):1-11.
15. DUVAL, Y., G. T. DURRAND, K. KONAN, and C. PANNETIER. 1988. *In vitro* vegetative propagation of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) I. Strategy and results. *Oleagineux* 43(2): 39-47.
16. GINTING, G., A.U. LUBIS, FATMAWATI dan T. HUTOMO. 1993. Keragaan kelapa sawit yang berasal dari hasil perbanyakan kultur jaringan. I. Hasil pendahuluan. *Buletin Pusat Penelitian Kelapa Sawit* 1(4):63-68.
17. GUIDERDONI, E and Y. DEMARLY. 1988. Histology of somatic embryogenesis in cultured leaf segments of sugarcane plantlets. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 14:71-88.
18. HARDON, J.J. 1984. The oil palm. Progress through plant breeding in Malaysia. *Span* 27:59-61.
19. JACK, P. L. and S. MAYES. 1993. Use of molecular markers for oil palm breeding II. Use of DNA markers (RFLPs). *Oleagineux* 48(1):1- 8.
20. JONES, L.H., D.E. HANKE and C.J. EUWENS. 1995. An evaluation of the role of cytokinins in the development of abnormal inflorescence in oil palms (*Elaeis guineensis* Jacq.) regenerated from tissue culture. *J. Plant Growth Reg.* 14:135-142.
21. KIM, S. W., N.H. SONG, K.H. JUNG, S.S. KWAK and J.R. LIU. 1994. High frequency plant regeneration from anther-derived cell suspension cultures via somatic embryogenesis in *Cantharanthus roseus*. *Plant Cell Reports* 13:319-322.
22. LATIF, S. 1991. Identifikasi mikrospora kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) untuk kultur haploid. *Buletin Perkebunan* 22(4):231-238.
23. LATIF, S. and G. GINTING. 1992. Hasil pendahuluan kultur jaringan kelapa sawit Pisifera. *Berita Penelitian Perkebunan* 2(2):49-56.
24. NOIRET, J.M., J.P. GASCON, C. PANNETIER. 1985. Oil palm production by *in vitro* culture. *Oleagineux* 40(7):365-372.
25. OROPEZA, M., P. GUEVARA, E. GARCIA, J.L. RAMIREZ and E. DE GARCIA. 1995. Identification of somaclonal variants of sugarcane (*Sacharum* sp.) resistant to sugarcane mosaic virus via RAPD markers. *Plant Molecular Biology Reporter* 13(2):182-191.
26. OSUGA, K. and A. KOMAMINE. 1994. Synchronization of somatic embryogenesis from carrot cells at high frequency as a basis for mass production of embryos. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 39:125-135.

27. PARANJOTHY, K. 1993. Tissue culture of palms. In J. Prakash and R.L.M. Pierik (eds). Plant biotechnology. Commercial prospects and problems. Intercept Ltd. Andover UK 73-83.
28. SANTOSO, D., TIRTOBOMA, A. BUDIANI, J.S. TAHARDI. 1991. Isolation of viable protoplast in high frequency from oil palm. Menara Perkebunan 59(3):77-80.
29. SCHWENDIMAN, J., C. PANNETIER and F. N. MICHAUX. 1990. Histology of embryogenic formations during *in vitro* culture of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Oleagineux 45(10):409-416.
30. SMITH, W.K. and J.A. THOMAS. 1973. The isolation and *in vitro* cultivation of cells of (*Elaeis guineensis* Jacq.). Oleagineux 28:123-127.
31. TAHARDI, J. S. 1994. Development of *in vitro* techniques for clonal propagation of estate crops. Buletin Bioteknologi Perkebunan 1(1):3-9.
32. TEIXEIRA, J. B., SONDAHL, T. NAKAMURA and E.G. KIRBY. 1995. Establishment of oil palm cell suspensions and plant regeneration. Plant Cell Tissue Organ Culture 40:105-111.
33. THOMAS, V and P.S. RAO. 1985. *In vitro* propagation of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var. Tenera) through somatic embryogenesis in leaf-derived callus. Current Sci. India 54(4):184-185.
34. TURNHAM, E and D.H. NORTHCOTE. 1982. The use of acetyl-Co A carboxylase activity and changes in wall composition as measures of embryogenesis in tissue culture of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Biochem. J.208:323-332.
35. VIJAY, R., P. AJAY, S. N. RAINA, P. RANI and A. PARIDA. 1995. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in micropropagated plants of *Populus deltoides* Marsh. Plant Cell Reports 14(7):459-462.

ooOoo

It is the policy of the Association to publish only original research articles of broad interest to the medical profession. The Journal is not a place for the publication of routine reports of clinical or laboratory work, or of abstracts of other publications.

The Journal is a forum for the presentation of original research in medicine, surgery, and the allied sciences. The research should be of broad interest to the medical profession and should contribute to the advancement of medical knowledge.

The Journal is a forum for the presentation of original research in medicine, surgery, and the allied sciences. The research should be of broad interest to the medical profession and should contribute to the advancement of medical knowledge.

The Journal is a forum for the presentation of original research in medicine, surgery, and the allied sciences. The research should be of broad interest to the medical profession and should contribute to the advancement of medical knowledge.

The Journal is a forum for the presentation of original research in medicine, surgery, and the allied sciences. The research should be of broad interest to the medical profession and should contribute to the advancement of medical knowledge.

The Journal is a forum for the presentation of original research in medicine, surgery, and the allied sciences. The research should be of broad interest to the medical profession and should contribute to the advancement of medical knowledge.

The Journal is a forum for the presentation of original research in medicine, surgery, and the allied sciences. The research should be of broad interest to the medical profession and should contribute to the advancement of medical knowledge.

The Journal is a forum for the presentation of original research in medicine, surgery, and the allied sciences. The research should be of broad interest to the medical profession and should contribute to the advancement of medical knowledge.