

## **Induksi Kalus dan Regenerasi Tanaman pada Kultur Antera Persilangan Padi Indica Varietas Lokal Bengkulu**

### *Callus induction and Plant Regeneration from Anther Culture of Indica Rice Crosses Bengkulu Local Varieties*

**Reny Herawati<sup>1\*</sup>, Rustikawati<sup>2</sup>, Entang Inorihah<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Jurusan Agrekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu

\*: renywati\_ruslan@yahoo.com

#### **ABSTRACT**

*Establishment of homozygous lines can be accelerated with anther culture technique that can produce pure lines in one generation. Formation of spontaneous double haploid plants in rice anther culture is very beneficial, because it does not need to be doubled haploid plants as material selection. This study aims to obtain a doubled haploid lines of upland rice is tolerant to drought and blast disease resistance. The main ingredient in this research is anther crosses of rice plants (F1), which consists of local varieties with selected lines of P1 (Sriwijaya x IR-148), P2 (Sriwijaya x IR-7858-1), P3 (Bugis x IR -148), and P4 (Bugis x IR-7858-1), callus induction media (N6), regeneration medium (MS). Anther culture of local varieties of rice indica/indica produced callus induction and plant regeneration are low, resulting in low efficiency of anther culture in providing green plants. The use of donor parents indica/japonica which is responsive to anther culture into consideration for the material F1 crosses. Anther inoculation needs to be done in several stages so that the opportunity to obtain plantlets in sufficient quantities for material selection will be greater.*

*Key word: anther culture, local varieties, callus, regenerate*

#### **ABSTRAK**

Pembentukan tanaman haploid ganda spontan pada kultur antera padi sangat menguntungkan, karena tidak perlu menggandakan tanaman haploid sebagai bahan seleksi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan galur-galur haploid ganda padi gogo yang toleran terhadap cekaman kekeringan dan tahan penyakit blas. Bahan utama dalam penelitian ini adalah antera tanaman padi hasil persilangan (F1) yang terdiri atas varietas lokal dengan galur-galur terpilih yaitu P1 (Sriwijaya x IR-148+), P2 (Sriwijaya x IR-7858-1), P3 (Bugis x IR-148+), dan P4 (Bugis x IR-7858-1), media induksi kalus (N6), media regenerasi (MS) (mengikuti metode Dewi 2003, Herawati 2008). Kultur antera varietas lokal padi indica/indica menghasilkan respon induksi kalus dan regenerasi tanaman yang rendah, sehingga menghasilkan efisiensi kultur antera yang rendah dalam menghasilkan tanaman hijau. Penggunaan tetua donor indica/japonica yang responsif terhadap kultur antera menjadi pertimbangan untuk bahan persilangan F1.

*Kata kunci : kultur anter, varietas lokal, kalus, regenerasi*

## PENDAHULUAN

Penggunaan padi gogo varietas unggul saat ini masih sangat rendah, disebabkan karena kurangnya ketersediaan benih dan kurangnya minat penangkar dalam memproduksi benih padi yang unggul. Kesulitan peningkatan produksi padi gogo disebabkan oleh kendala fisik, biologi dan sosial ekonomi. Lahan pertanian umumnya bereaksi masam dengan kejenuhan Al tinggi, selain itu sering terjadi kekeringan dan kahat hara.

Perakitan varietas memerlukan waktu dan dana yang relatif besar. Pembentukan galur homozigot dapat dipercepat dengan teknik kultur antera yang dapat menghasilkan galur-galur murni dalam satu generasi. Pembentukan tanaman haploid ganda spontan pada kultur antera padi sangat menguntungkan, karena tidak perlu menggandakan tanaman haploid sebagai bahan seleksi. Kultur antera yang dapat menghasilkan tanaman haploid ganda atau galur murni (Zapata, 1985) akan meningkatkan efisiensi pembentukan tanaman ideal dan varietas padi lahan kering yang diinginkan. Teknik ini menghasilkan tanaman haploid melalui induksi embriogenesis dari pembelahan berulang mikrospora/pollen tanaman donor antera yang berasal dari persilangan tetua yang memiliki karakter yang diinginkan. Kombinasi karakter kedua tetua terjadi pada tanaman haploid, sehingga bila kromosomnya digandakan atau terjadi penggandaan spontan selama kultur akan diperoleh tanaman haploid ganda (Di-

haploid/DH) yang homozigot atau galur murni. Seleksi karakter yang diinginkan dapat dilakukan pada generasi awal yaitu DH1 atau DH2, sehingga waktu yang digunakan relatif lebih singkat dibandingkan metode pemuliaan konvensional (Dewi *et al.*, 1996). Di Cina dan Korea, aplikasi kultur antera dalam pemuliaan tanaman padi telah berhasil mendapatkan berbagai varietas unggul (Li, 1992; Chung, 1992).

Padi subspecies *indica* merupakan genotipe rekalsitran yang sulit menghasilkan regenerasi tanaman hijau melalui kultur antera. Para ahli di Cina dapat menghasilkan tanaman hijau paling tinggi sebesar 3,0% untuk *indica* (Zhang, 1989), sedangkan untuk persilangan *indica/indica* lebih rendah lagi, yaitu sebesar 2,0% (Zhuo, 1996). Menurut Li (1992), penelitian mengenai kemampuan suatu genotipe dalam menghasilkan tanaman hijau perlu dilakukan untuk menjamin keberhasilan pemuliaan padi melalui kultur antera. Selain tergantung dari genotipe yang digunakan sebagai bahan kultur, daya kultur antera juga dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam media (Chung, 1992).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui respon padi *indica* varietas lokal Bengkulu terhadap induksi kalus dan regenerasi tanaman terhadap kultur antera.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di laboratorium Tebu Wulung Nursery, Kelapa Dua Depok dan rumah kaca Balai Besar Penelitian dan

Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor dari bulan Oktober 2009 sampai November 2010.

Bahan utama adalah : antera tanaman padi hasil persilangan (F1) yang terdiri dari varietas lokal Bengkulu dan galur-galur terpilih yaitu P1 (Sriwijaya x IR-148+), P2 (Sriwijaya x IR-7858-1), P3 (Bugis x IR-148+), dan P4 (Bugis x IR-7858-1), media induksi kalus (N6), media regenerasi (MS) (Dewi, 2003; Herawati, 2008).

Media dasar yang digunakan adalah media N6 untuk induksi kalus, dan media MS (Murashige dan Skoog, 1962) untuk regenerasi dan pengakaran. Media induksi kalus adalah media N6 yang diberi 2.0 mg/l NAA dan 0.5 mg/l kinetin, sedangkan media regenerasi adalah media MS yang diberi 0.5 mg/l NAA dan 2.0 mg/l Kinetin. Tanaman sumber eksplan sesuai dengan perlakuan ditanam di rumah kaca. Malai yang masih dibungkus selubung mulai dikoleksi pada saat fase bunting. Malai disimpan selama 8-10 hari dalam ruang dingin bersuhu 5 °C. Perlakuan suhu dingin dimaksudkan untuk membantu menyerasakan stadia polen, sehingga lebih banyak polen pada stadia uninukleat yang dapat digunakan (Nitsch, 1983; Zapata *et al.*, 1983).

Spikelet yang sudah steril dipotong 1/3 bagian dari pangkalnya dan dikumpulkan pada cawan petri steril. Masing-masing spikelet kemudian dijepit dengan pinset dan diketukkan pada tepi cawan petri yang sudah berisi 25 ml media induksi kalus,

sampai antera keluar dan jatuh ke atas media. Setiap cawan petri yang berisi antera dari 25-30 buah bulir bunga padi (spikelet) dari satu tanaman pada satu persilangan. Inokulasi/penanaman eksplan ini dilakukan dalam *laminar air flow cabinet*.

Kultur diinkubasi di ruang gelap bersuhu  $25 \pm 2$  °C untuk menginduksi keluarnya kalus yang berasal dari butir sari di dalam antera (Li, 1992; Zhang, 1992). Kalus bertekstur kompak yang berukuran 1-2 mm langsung dipindahkan ke dalam botol kultur yang sudah berisi 25 ml media regenerasi. Tanaman hijau yang tumbuh dari kalus pada media regenerasi dan sudah mencapai tinggi 3-5 cm dipindahkan ke dalam tabung kultur berisi 15 ml media perakaran. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah kalus yang terbentuk, jumlah kalus yang menghasilkan tanaman (albino dan hijau), jumlah tanaman total (albino + hijau), jumlah tanaman hijau, dan jumlah tanaman albino.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Persilangan padi lokal tidak berpengaruh nyata terhadap induksi kalus yang ditunjukkan oleh peubah jumlah kalus, jumlah kalus menghasilkan tanaman, jumlah kalus menghasilkan tanaman hijau, dan jumlah kalus menghasilkan tanaman albino (Tabel 1). Setiap genotipe (kombinasi persilangan) mempunyai kemampuan berbeda dalam menghasilkan kalus. Jumlah kalus yang terbentuk hanya berkisar antara 1.37 – 1.87 dari jumlah antera yang diinokulasi.

Tabel 1. Pengaruh kombinasi persilangan terhadap induksi kalus pada kultur antera tanaman padi lokal Bengkulu

Persilangan	Jumlah Kalus	Jumlah KMT*	Jumlah KMTH**	Jumlah KMTA***
P1 (Sriwijaya x IR-148+)	1.37a†	0.50a	0.50a	0.50a
P2 (Sriwijaya x IR-7858 1)	1.75a	1.25a	0.25a	1.00a
P3 (Bugis x IR-148+)	1.75a	1.50a	0.25a	1.00a
P4 (Bugis x IR-7858-1)	1.87a	1.13a	0.25a	1.12a

\*KMT = Kalus Menghasilkan Tanaman, \*\*KMTH = Kalus Menghasilkan Tanaman Hijau, \*\*\*KMTA = Kalus Menghasilkan Tanaman Albino; †angka rata-rata diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata pada uji BNT 0.05

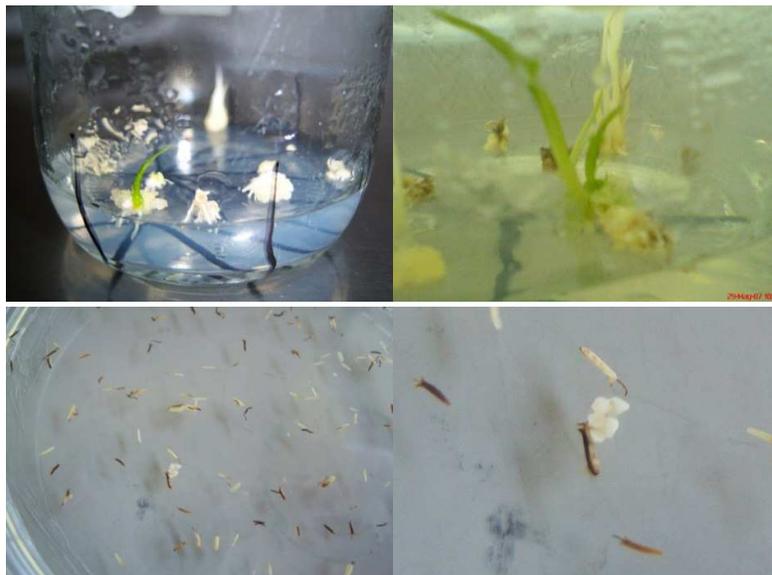
Dari 4 nomor persilangan F1, persilangan P4 (Bugis x IR-7858-1) mempunyai induksi kalus tertinggi di bandingkan persilangan lainnya yaitu sebesar 1.87, kemudian P2 (Sriwijaya x IR-7858-1) dan P3 (Bugis x IR-148+) masing

Penelitian Zhang (1989) menunjukkan bahwa pada kultur antera padi, genotipe berbeda akan berbeda dalam laju induksi kalus dan diferensiasi kalus menjadi tanaman. Hal yang sama dilaporkan oleh Dewi *et al.* (2006) bahwa respon varietas padi *indica* bervariasi terhadap induksi kalus, jumlah antera yang menghasilkan kalus berkisar antara 1.4-26.5% dan kalus menjadi tanaman 4.8-53 %. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa genotipe tanaman donor nyata mempunyai peran penting dalam menentukan produksi tanaman hijau melalui kultur antera. Frekuensi pembentukan kalus dari kultur antera sangat tergantung pada genotipe yang digunakan.

Kalus yang diperoleh dapat menghasilkan tanaman hijau, tanaman albino, atau tidak menghasilkan tanaman (Gambar 1). Rata-rata persilangan P2, P3 dan P4

mempunyai kemampuan kalus menghasilkan tanaman hijau masing-masing sebesar 1.25, 1.50 dan 1.13, lebih tinggi dibanding persilangan P1. Jumlah kalus yang menghasilkan tanaman hijau selalu lebih rendah dibanding kalus menghasilkan tanaman albino. Jumlah kalus menghasilkan tanaman albino paling tinggi dihasilkan oleh persilangan P4 yaitu sebesar 1.12 (Tabel 1). Munculnya tanaman albino merupakan fenomena yang biasa terjadi pada kultur antera tanaman sereal (Shahnewaz *et al.*, 2003). Penyebab tanaman albino sampai saat ini belum diketahui secara pasti. Penyebab tanaman albino pada tanaman padi disebabkan oleh hilangnya sebagian besar produk gen plastid akibat terjadinya mutasi pada inti yang menginduksi defisiensi ribosom plastida dan defisiensi klorofil (Zubko and Day, 1998; Amatriain *et al.*, 2009).

Kombinasi persilangan padi berpengaruh nyata terhadap regenerasi tanaman yang ditunjukkan oleh peubah jumlah tanaman hijau, jumlah tanaman albino dan jumlah tanaman total (hijau+albino). Jum-



Gambar 1. Induksi kalus dan regenerasi tanaman pada kultur antera varietas lokal

lah tanaman hijau terbanyak dihasilkan oleh persilangan P1 (Bugis x IR-148+) sebesar 0.50, diikuti oleh P2 (SGJT-36 x Fatmawati) dan P3 masing-masing sebesar 0.37, dan P4 sebesar 0.25. Pada persilangan P3 (Fatmawati x SGJT-36) dihasilkan 14.1 tanaman hijau atau 39.2 persen dari total tanaman yang dihasilkan, sedangkan persilangan P6 (SGJT-36 x Fatmawati) dihasilkan 10.3 tanaman hijau atau 37.6 persen (Tabel 2). Persentase tanaman albino yang dihasilkan selalu lebih besar dibandingkan tanaman hijau. Permasalahan dalam penerapan kultur antera pada padi adalah rendahnya regenerasi tanaman hijau. Hal ini disebabkan oleh terjadinya regenerasi tanaman albino atau tidak terjadinya regenerasi tanaman (Zapata *et al.* 1983; Dewi *et al.* 2007). Hasil penelitian Munarso *et al.* (2008) menunjukkan bahwa plantlet hijau yang dihasilkan dari semua kombinasi per-

silangan padi hibrida rata-rata rendah. Hal ini disebabkan oleh tingginya pembentukan plantlet albino yang bervariasi antara 47-100%.

Rendahnya daya regenerasi tersebut karena jenis varietas yang disilangkan adalah varietas lokal yang umumnya adalah *indica*. Dari hasil penelitian terdahulu jenis padi *indica* memang lebih sulit untuk beregenerasi dan menghasilkan tanaman hijau bila dibandingkan jenis *japonica*. Telah dilaporkan secara umum bahwa padi *japonica* lebih responsif dalam kultur antera dibandingkan *indica* dan *javanica*, sehingga padi subspecies *japonica* disebut mempunyai daya kultur antera yang tinggi (Chung, 1992). Padi subspecies *indica* merupakan genotipe rekalsitran yang sulit menghasilkan regenerasi tanaman hijau melalui kultur antera. Para ahli di Cina dapat menghasilkan tanaman hijau paling

Tabel 2. Pengaruh kombinasi persilangan terhadap regenerasi tanaman pada kultur antera tanaman padi lokal Bengkulu

Persilangan	Jumlah				
	TH*	TH (%)**	Jumlah TA*	TA (%)**	Jumlah TT
P1 (Sriwijaya x IR-148+)	0.50a†	17.4	2.37a	82.6	2.8a
P2 (Sriwijaya x IR-7858 1)	0.37a	15.0	2.12a	85.0	2.5a
P3 (Bugis x IR-148+)	0.37a	23.1	1.25a	76.9	1.6a
P4 (Bugis x IR-7858-1)	0.25a	12.5	1.75a	87.5	2.0a

\*TA=Tanaman Albino, TH= Jumlah Tanaman Hijau, TT=Jumlah Total Tanaman;\*\* tidak dilakukan uji statistic;

†angka rata-rata diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda pada uji BNT 0.05

Tabel 3. Pengaruh kombinasi persilangan terhadap efisiensi pembentukan kalus dan tanaman hijau pada kultur antera padi

Persilangan	Persen kalus terhadap antera	Persen kalus menghasilkan tanaman	Rasio th terhadap kmt**	Persen th* terhadap antera
P1 (Sriwijaya x IR-148+)	1.02a***	35.4a	0.50a	0.07a
P2 (Sriwijaya x IR-7858 1)	1.04a	54.1a	0.14b	0.03a
P3 (Bugis x IR-148+)	1.22a	78.1b	0.12b	0.05a
P4 (Bugis x IR-7858-1)	1.30a	42.7a	0.08b	0.03a

\*TH = Tanaman Hijau, \*\*KMT = Kalus Menghasilkan Tanaman; \*\*\*angka rata-rata diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata pada uji BNT 0.05

tinggi sebesar 3,0% untuk indica (Zhang, 1989), sedangkan untuk persilangan indica/indica lebih rendah lagi, yaitu sebesar 2,0% (Zhuo, 1996). Menurut Li (1992), penelitian mengenai kemampuan suatu genotipe dalam menghasilkan tanaman hijau perlu dilakukan untuk menjamin keberhasilan pemuliaan padi melalui kultur antera. Selain tergantung dari genotipe yang digunakan sebagai bahan kultur, daya kultur antera juga dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam media (Chung, 1992).

Penelitian Zhang (1989) menunjukkan bahwa pada kultur antera padi, genotipe berbeda akan berbeda dalam laju induksi kalus dan diferensiasi kalus men-

jadi tanaman. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa genotipe tanaman donor nyata mempunyai peran penting dalam menentukan produksi tanaman hijau melalui kultur antera. Frekuensi pembentukan kalus dari kultur antera sangat tergantung pada genotipe yang digunakan. Masyhudi (1997) melaporkan bahwa induksi kalus dalam kultur antera tidak hanya ditentukan oleh perbedaan spesies dalam genus, tetapi juga oleh perbedaan varietas dalam suatu spesies tanaman.

Efisiensi kultur antera yang terkait dengan produksi tanaman hijau dinyatakan dalam rasio tanaman hijau (TH) terhadap jumlah kalus menghasilkan tanaman (KMT) dan persentase tanaman hijau yang

dihasilkan terhadap jumlah antera yang dikulturkan (Zhang, 1992). Kedua peubah ini merupakan kriteria terpenting dalam memperhitungkan keefisienan penggunaan kultur antera.

Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada peubah persen kalus menghasilkan tanaman dan rasio tanaman hijau terhadap kalus menghasilkan tanaman (Tabel 3). Persentase kalus menghasilkan tanaman hanya berkisar antara 1.02 – 1.30 persen. Perhitungan persentase kalus menghasilkan tanaman tertinggi pada persilangan P3 (Bugis x IR-148+) yaitu sebesar 78.1 persen. Persen tanaman hijau terhadap antera sangat rendah yaitu hanyaberkisar antara 0.03 – 0.07 persen (Tabel 3) Persentase antera yang tidak dapat menghasilkan kalus relatif tinggi. Tahap perkembangan butir tepung sari pada saat pengambilan antera dan saat dikulturkan merupakan saat paling kritis di dalam menentukan keberhasilan kultur antera. Bhojwani *et al.* (2003) dan Datta (2005) mengungkapkan beberapa faktor yang mempengaruhi androgenesis, yaitu genotipe tanaman, fisiologi tanaman donor, media kultur, dan pra-perlakuan sebelum antera dikulturkan pada suhu rendah.

Rata-rata ratio tanaman hijau terhadap kalus menghasilkan tanaman sangat rendah, yaitu berkisar antara 0.08 – 0.50 (Tabel 3). Pada tanaman sereal, persentase tanaman hijau yang dapat diregenerasikan masih merupakan faktor pembatas dalam penggunaan kultur antera untuk pemuliaan

(Zhou, 1996). Untuk padi subspecies indica persentase tanaman hijau pada penelitian ini sangat rendah. Hal ini disebabkan pada umumnya persentase tanaman hijau yang diperoleh dari padi subspecies indica hanya sekitar 3% (Zhang, 1989). Walaupun pemberian putresin  $10^{-3}$  pada penelitian Dewi *et al.* (2006) dapat meningkatkan persentase tanaman hijau pada asesi padi indica Sigundil dan Krowal.

Efisiensi penggunaan kultur anter dalam pemuliaan menjadi tidak layak apabila jumlah tanaman haploid ganda yang dihasilkan tidak mencukupi untuk bahan seleksi. Jumlah populasi haploid ganda yang diperlukan untuk bahan seleksi tergantung pada jumlah gen yang akan diseleksi. Makin banyak gen yang mengontrol karakter yang diinginkan maka jumlah individu populasi untuk bahan seleksi akan semakin besar (Dewi dan Purwoko, 2001). Purwoko *et al.* (2001) menyatakan bahwa peningkatan regenerasi tanaman hijau amat penting, karena jumlah tanaman hijau yang banyak akan mempercepat atau memperbesar kesempatan bagi pemulia tanaman untuk memperoleh galur murni yang diinginkan.

Dengan diperolehnya informasi kemampuan induksi kalus dan meregenerasikan tanaman melalui kultur antera pada varietas lokal yang digunakan pada penelitian ini, menjadi bahan pertimbangan untuk pemilihan genotipe sebagai tetua donor. Dasar pemilihan ini sesuai dengan anjuran Sopory dan Munshi (1996) yang

menekankan pentingnya memilih genotipe yang dapat meregenerasikan tanaman hijau dibandingkan dengan genotipe yang hanya memproduksi kalus. Regenerasi tanaman hijau yang tinggi dalam kultur anthera, akan diperoleh peluang mendapatkan galur haploid ganda spontan dengan jumlah yang cukup banyak dari F1 hasil persilangan tetua donor. Galur murni tersebut akan dapat digunakan sebagai bahan seleksi untuk menghasilkan varietas baru yang berdaya hasil tinggi seperti varietas unggul serta mempunyai toleransi tinggi terhadap cekaman abiotik maupun biotik.

### KESIMPULAN

Kultur anthera varietas lokal padi indica/indica menghasilkan respon induksi kalus dan regenerasi tanaman yang rendah, sehingga menghasilkan efisiensi kultur anthera yang rendah dalam menghasilkan tanaman hijau.

### SANWACANA

Ucapan terima kasih dan penghargaan disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional, melalui Hibah Bersaing DP2M Dikti, Tahun 2010.

### DAFTAR PUSTAKA

Amatriaín, MM., JT. Svensson, AM. Castillo, TJ. Close, MP. Vallés. 2009. Microspore embryogenesis: assignment of genes to embryo formation and green vs. albino plant production.

- Funct Integr Genomics* 9:311–323.
- Bhojwani, SS., H. Pande, and A. Raina. 2003. Factors affecting androgenesis in Indica Rice. Departement of Botany, University of Delhi, Delhi 110007, India. *Email:ssbhojwani@satyam.net.in*
- Chung, GS. 1992. Anther culture for rice improvement in Korea. In Zheng, K., T. Murashige (eds.). *Anther Culture for Rice Breeder. Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China.* p.8-37.
- Datta SK. 2005. Androgenic haploids: factors controlling development and its application in crop improvement. *Current Science* 89(11):1870-1878.
- Dewi, I.S., I. Hanarida, S. Rianawati . 1996. Anther culture and its application for rice improvement program in Indonesia. *Indon. Agric. Res. and Dev. J.* 18:51-56.
- Dewi IS dan Purwoko BS. 2001. Kultur anthera untuk mendukung program pemuliaan tanaman padi. *Buletin Agronomi* 29(2):59-63.
- Dewi, I.S. 2003. Peranan fisiologis poliamin dalam regenerasi tanaman pada kultur anthera padi (*Oryza sativa* L.). *Disertasi* (tidak dipublikasikan). Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. 147 hal.
- Dewi, IS., BS. Purwoko, H. Aswidinnoor, IH. Somantri, dan MA. Chozin. 2006. Regenerasi tanaman pada kultur anthera beberapa aksesi padi indi-

- ca toleran aluminium. *Jurnal Agro Biogen*, 2(1):30-35.
- Dewi, IS., BS. Purwoko, H. Aswidinnoor. 2007. Regenerasi tanaman pada kultur antera padi: pengaruh persilangan dan aplikasi putresin. *Buletin Agromoni* 35:(2):68-74.
- Herawati, R., BS. Purwoko, IS. Dewi, N. Khumaida, B. Abdullah. 2008. Pembentukan galur haploid ganda padi gogo dengan sifat-sifat tipe baru melalui kultur antera. *Bulletin Agromoni*, 36(3): 181-187.
- Li, MF. 1992. Anther culture breeding of rice at the CAAS. *In* Zheng, K., T. Murashige (eds.). *Anther Culture for Rice Breeders. Proceedings of Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China*. pp. 75-86.
- Masyhudi, MF. 1994. Kultur antera tanaman padi. Puslitbangtan, Bogor. Badan Litbang Pertanian. *Buletin Penelitian* 9:18-31.
- Munarso, YP., IS. Dewi, Suwarno. 2008. Regenerasi tanaman dengan kultur antera beberapa persilangan padi hibrida. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 27(1):13-17.
- Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue. *Physiol. Plant.* 15:473-479.
- Nitsch, C. 1983. Progress in anther and pollen culture techniques. Di dalam: *Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement. Proc. of a Workshop Cosponsored by the Institute of Genetics, Academia Sinica and the International Rice Research Institute. Science Press, Beijing, China.* hlm 1-10.
- Purwoko, BS., I. Hanarida, IS. Dewi, E. Santosa, H. Rafiastuti. 2001. Penggunaan poliamin untuk meningkatkan regenerasi tanaman hijau pada kultur antera padi dan aplikasinya dalam program pemuliaan padi. Laporan Penelitian Hibah Bersaing VIII. Ditjen Dikti Depdiknas.
- Shahnewaz, S., MA. Bari, NA. Siddique, N. Khatun, MH. Rahman, and ME. Haque. 2003. Induction of haploid rice plants through *in vitro* anther culture. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 6(14):1250-1252.
- Sopory, SK., and M. Munshi. 1996. Anther culture. *In* Jain, S.M, S.K Sopory, and R.E. Veilleux (Eds.). *In Vitro Haploid Production in Higher Plants. Vol. I. Fundamental Aspects and Methods.* Kluwer Acad. Publ. Netherlands. p.145-176.
- Zapata, F.J., GS. Khush, JP. Crill, MH. Neu, RO. Romero, LB. Torrizo, M. Alejar. 1983. Rice anther culture at IRRI. *In* Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement. Proceedings of a workshop co-sponsored by the Institute of Genetics, Academia Sinica and the International Rice Research Institute.

- te. Science Press, Beijing, China. pp. 27-46.
- Zapata, FJ. 1985. Rice anther culture at IRRI. In. *Biotechnology in International Agriculture Research*. IRRI. 85-89.
- Zhang, ZH. 1989. The practicability of anther culture breeding in rice. In *Mujeeb-Kazi, A. and LA. Stich (Eds.). Review of Advances in Plant Biotechnology, 1985-88*. International Maize and Wheat Improvement Center- International Rice Research Institute. p. 31-42.
- Zhou, H. 1996. Genetics of green plantlet regeneration from anther culture of cereal. In *SM Jain, SK Sopory, RE Veilleux (Eds.). In Vitro Haploid Production in Higher Plant. Vol.2. Application*. Kluwer Acad. Publ. Netherlands, pp. 169-187.
- Zubko, MK., and A. Day. 1998. Stable albinism induced without mutagenesis: a model for ribosome-free plastid inheritance. *The Plant Journal* 15(2):265–271.