

Perbaikan Galur Mandul Jantan dan Pemulih Kesuburan melalui Kultur Antera

Iswari S. Dewi, Aniversari Apriana, Ida H. Somantri, A. Dinar Ambarwati, Suwarno, dan Minantyorini

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Kultur antera merupakan suatu teknik *in vitro* yang dapat menghasilkan tanam-an haploid ganda homozigot (galur murni) langsung dari tanaman F1 atau ge-nerasi bersegregasi lainnya yang telah diseleksi, sehingga dapat mempercepat siklus pemuliaan. Pada penelitian ini kultur antera tanaman F1 hasil persilangan galur pelestari atau galur pemulih kesuburan dengan varietas unggul dilakukan pada dua media induksi/regenerasi, yaitu media A1-A1R (N6/MS mengandung 10^{-3} M putresin) dan media A2-A2R (N6/MS mengandung 2 mg 2,4-D/l). Tujuan penelitian adalah (1) mendapatkan benih dari hasil persilangan galur pelestari atau pemulih kesuburan dengan varietas unggul yang mempunyai sifat-sifat yang diinginkan, yaitu berdaya hasil tinggi serta tahan HPT utama; (2) menda-patkan calon galur pelestari dan pemulih kesuburan yang mempunyai sifat-sifat yang diinginkan tersebut melalui kultur antera. Telah diperoleh benih dari 8 per-silangan galur pelestari dengan varietas unggul, yaitu 218 benih asal IR62829B x Sintanur, 66 benih asal IR58025B x Sintanur, 643 benih asal IR62829B x Ci-herang, 165 benih asal IR58025B x Ciherang, 528 benih asal IR62829B x IR64, 64 benih asal IR58025B x IR64, 360 benih asal IR62829B x Memberamo, dan 74 benih asal IR58025B x Memberamo, sedangkan dari 8 persilangan galur pe-mulih kesuburan dengan varietas unggul, yaitu IR53942R x Ciherang diperoleh 52 benih, IR53942R x IR64 diperoleh 316 benih, IR53942R x Sintanur diperoleh 56 benih, IR53942R x Memberamo diperoleh 297 benih, BR827-35R x Ciherang diperoleh 177 benih, BR827-35R x IR64 diperoleh 308 benih, BR827-35R x Sintanur diperoleh 91 benih, BR827-35R x Memberamo diperoleh 273 benih. Media A1-A1R lebih efisien dalam menghasilkan jumlah kalus, jumlah tanaman hijau, jumlah tanaman albino, dan jumlah tanaman total dibandingkan dengan media A2-A2R. Diperoleh 43 galur Maintainer asal kultur antera tanaman F1 (IR58025B x Sintanur dan IR62829B x Ciherang) dan 55 galur Restorer asal kultur antera tanaman F1 (IR53942R x Ciherang dan BR827-35R x Sintanur).

Kata kunci: Padi hibrida, mandul jantan, pemulih kesuburan, kultur antera

ABSTRACT

Anther culture technique was conducted to regenerate doubled haploid plants directly from F1 plants or other selected segregate plant materials. Therefore, this technique can be used to accelerate breeding cycle. In this research, anther culture of F1 from maintainer or restorer lines x varieties were conducted on two induction/regeneration media, namely A1-A1R (induction medium N6/regener-ation medium MS supplemented with 10^{-3} M putresin) and A2-A2R (induction medium N6 supplemented with 2 mg/l 2,4-D). The purpose of this research was: (1) to obtain seeds from crossing of maintainer and restorer lines with high yielding varieties having interest good traits, such as high yield, tolerance to biotic and abiotic stresses and good eating quality; (2) to obtain maintainer and restorer lines having the interest traits through anther culture. The results from 8 crosses of maintainer lines x released varieties were 218 seeds from IR62829B x Sintanur, 66 seeds from

IR58025B x Sintanur, 643 seeds from IR62829B x Ciherang, 165 seeds from IR58025B x Ciherang, 528 seeds from IR62829B x IR64, 64 seeds from IR58025B x IR64, 360 seeds from IR62829B x Memberamo, and 74 seeds from IR58025B x Memberamo, while from restorer lines x released varieties were 52 seeds from IR53942R x Ciherang, 316 seeds from IR53942R x IR64, 56 seeds from IR53942R x Sintanur, 297 seeds from IR53942R x Memberamo, 177 seeds from BR827-35R x Ciherang, 308 seeds from BR827-35R x IR64, 91 seeds from BR827-35R x Sintanur, and 273 seeds from BR827-35R x Memberamo. A1-A1R medium was more efficient in the production of calli, plantlet formation from calli, green and albino plantlet and total number of plantlet than A2-A2R medium. We obtained 43 maintainer lines originated from anther culture of F1 (IR58025B x Sintanur and IR62829B x Ciherang) and 55 restorer lines originated from anther culture F1 (IR53942R x Ciherang and BR827-35R x Sintanur).

Key words: Hybrid rice, male sterile, restorer, anther culture

PENDAHULUAN

Indonesia, yang mempunyai lahan sawah irigasi sekitar 5 juta hektar, sangat potensial untuk penerapan teknologi padi hibrida. Potensi hasil padi hibrida yang lebih besar dibandingkan padi nonhibrida (>15-20%) akan membantu di dalam memecahkan permasalahan dalam peningkatan produksi padi (Suprihatno *et al.*, 1994; Yuan, 1994). Saat ini, melalui kerja sama internasional telah diperoleh beberapa galur mandul jantan, yaitu IR58025A, IR62829A, IR68885A, dan IR68889A, galur pemulih kesuburan, yaitu IR53942R dan BR827-35R serta tiga hibrida harapan, yaitu IR56025A/BR827-35, IR58025A/IR53942, dan IR62829A.BR827-35. Pada umumnya, kelemahan yang dimiliki padi hibrida tersebut adalah daya hasil yang tidak stabil serta kerentanannya terhadap hama dan penyakit utama seperti wereng coklat, bakteri hawar daun, blas, dan virus tungro (Suprihatno dan Satoto, 1986; Satoto *et al.*, 1994; Suprihatno *et al.*, 1994; 1998).

Padi hibrida merupakan generasi F1 dari persilangan antara galur mandul jantan (*cytoplasmic male sterile/CMS line*) sebagai tetua betina dengan galur pemulih kesuburan (*restorer line*) sebagai tetua jantan. Dengan demikian, sifat-sifat dari varietas padi hibrida ditentukan oleh sifat-sifat kedua tetuanya. Oleh karena itu, untuk mendapatkan varietas padi hibrida yang baik, yaitu sesuai dengan kondisi agroekologi Indonesia dan mempunyai sifat-sifat yang diinginkan, seperti berdaya hasil tinggi dan stabil serta tahan terhadap hama dan penyakit utama, perlu dilakukan perbaikan terhadap galur tetuanya, yaitu galur mandul jantan dan galur pemulih kesuburan.

Beberapa varietas unggul dan galur harapan padi, yang merupakan plasma nutfah sumber ketahanan terhadap hama dan penyakit utama, misalnya tahan terhadap wereng coklat dan bakteri hawar daun selain mempunyai daya hasil tinggi dengan mutu beras baik, antara lain Memberamo, Sintanur, Ciherang, dan IR64. Varietas unggul tersebut dapat digunakan dalam merakit varietas hibrida yang berdaya hasil tinggi dan tahan hama penyakit utama.

Galur yang potensial untuk dibuat mandul jantan mempunyai gen yang mengendalikan sterilitas jantan tetapi sitoplasmanya normal sehingga tanaman menjadi fertil. Galur seperti itu disebut sebagai galur pelestari (*maintainer line*). Persilangan galur pelestari dengan galur/varietas unggul yang mempunyai sifat-sifat yang diinginkan merupakan tahapan pertama yang harus dilakukan untuk memperoleh galur pelestari yang mempunyai sifat-sifat yang diinginkan tersebut. Selanjutnya dengan melakukan silang balik dapat diperoleh galur mandul jantan baru dengan kemandulan stabil dan sifat-sifat yang unggul. Sementara itu, galur-galur pemulih kesuburan yang mempunyai sifat-sifat yang diinginkan dapat dipilih dari hasil persilangan antara galur pemulih kesuburan yang tersedia dengan varietas yang mempunyai ketahanan terhadap hama atau penyakit utama.

Untuk mendapatkan galur-galur tetua hibrida dalam waktu relatif singkat dapat digunakan teknologi kultur antera. Kultur antera merupakan suatu teknik *in vitro* yang dapat menghasilkan tanaman haploid ganda homozigot (galur murni) langsung dari tanaman heterozigos (tanaman F1 atau generasi bersegregasi lainnya yang telah diseleksi). Hal ini tanpa disukarkan oleh hubungan dominan-resesif sehingga dapat mempercepat siklus pemuliaan, karena dapat menghilangkan sebagian besar dari kegiatan seleksi pada setiap generasi yang umum dilakukan pada pemuliaan konvensional (Zapata, 1985; Fehr, 1987; Dewi *et al.*, 1996). Kultur antera sudah diakui sebagai teknologi yang cepat dan sangat efisien dalam perbaikan tanaman. Penggunaan teknik kultur antera di dalam program pemuliaan padi sudah menghasilkan beberapa varietas unggul baru, terutama di Cina (Hu, 1985; Li, 1992) dan Korea (Chung, 1992). Saat ini, teknik kultur antera telah digunakan oleh pemulia tanaman padi di Indonesia pada perbaikan tanaman dalam menghadapi cekaman biotik maupun abiotik (Dewi *et al.*, 1996). Teknik kultur antera ini juga telah terbukti berhasil digunakan dalam perakitan padi hibrida hasil silangan antar subspecies (Yan *et al.*, 1996).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan benih tanaman F1 dari hasil persilangan galur pelestari atau pemulih kesuburan dengan varietas unggul yang mempunyai sifat-sifat yang diinginkan, yaitu berdaya hasil tinggi serta tahan HPT utama; serta mendapatkan calon galur pelestari dan pemulih kesuburan yang mempunyai sifat-sifat yang diinginkan tersebut melalui kultur antera tanaman F1.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di rumah kaca dan laboratorium kultur jaringan Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian di Bogor mulai Januari 2002 sampai Desember 2002. Bahan tanaman yang digunakan adalah galur-galur pelestari IR62629B dan IR58025B, galur-galur pemulih kesuburan IR53942R dan BR827-35R serta varietas unggul IR64, Ciherang,

Memberamo, dan Sintanur sebagai donor untuk ketahanan terhadap hawar daun bakteri, wereng coklat, dan mutu beras baik (rasa nasi pulen).

Untuk perbaikan galur mandul jantan, persilangan dibuat antara galur pelestari dengan varietas unggul untuk menghasilkan tanaman F1. Untuk perbaikan galur pemulih kesuburan, persilangan dibuat antara galur pemulih kesuburan dengan varietas unggul yang dipilih untuk menghasilkan tanaman F1. Biji F1 (kode M1 dan M2 untuk calon galur pelestari serta kode R1 dan R2 untuk calon galur pemulih kesuburan) disemai dan ditanam dalam ember plastik di rumah kaca untuk mendapatkan antera.

Prosedur kultur antera dilakukan dengan metode Dewi *et al.* (1994). Kultur antera dilakukan dengan menggunakan 2 macam media induksi kalus dan 2 macam media regenerasi, yaitu (a) media A1-A1R: media induksi N6 (Chu, 1978) yang diberi tambahan zat pengatur tumbuh auksin (2,0 mg NAA/l), sitokinin (0,5 mg kinetin/l), poliamin (10^{-3} M putresin), dan 60,0 g sukrosa/l dengan media regenerasi MS (Murashige dan Skoog, 1962) yang diberi tambahan zat pengatur tumbuh auksin (0,5 mg NAA/l), sitokinin (2,0 mg kinetin/l), poliamin (10^{-3} M putresin), dan 40,0 g sukrosa/l (Purwoko, 2000; Dewi *et al.* 2001) dan (b) media A2-A2R: media induksi N6 yang diberi tambahan zat pengatur tumbuh auksin (2,0 mg 2,4-D/l), dan 50,0 g sukrosa/l dengan media regenerasi MS yang diberi tambahan zat pengatur tumbuh auksin (1,0 mg NAA/l), sitokinin (2,0 mg kinetin/l) dan 30,0 g sukrosa/l (Yan *et al.*, 1996).

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah benih yang dihasilkan dari setiap hasil persilangan, serta dari hasil kultur antera, yaitu jumlah kalus, jumlah kalus yang menghasilkan tanaman, jumlah tanaman hijau dan albino, jumlah tanaman haploid, dan haploid ganda spontan yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persilangan Galur Pelestari atau Galur Pemulih Kesuburan dengan Varietas Unggul

Persilangan galur pelestari atau galur pemulih kesuburan dengan varietas unggul dapat menghasilkan benih, walaupun keberhasilannya tidak sama (Tabel 1). Dari 16 persilangan, hasil benih terendah, yaitu kurang dari 100 butir dicapai oleh persilangan IR58025B x Sintanur (48 butir), IR58025B x IR64 (64 butir), IR58025B x Memberamo (74 butir), IR53942R x Ciherang (52 butir), IR53942R x Sintanur (56 butir), BR827-35R x Sintanur (91 butir). Kesepuluh persilangan lainnya menghasilkan benih antara 165-643 butir, dengan jumlah benih terbanyak dicapai oleh IR62829B x Ciherang (643 butir). Menurut Watanabe (1997), derajat fertilitas hibrida yang berlainan tersebut ditentukan oleh kesesuaian genetik antar kedua tetuanya. Selanjutnya dipilih dua persilangan saja untuk ditanam dan anteranya di-gunakan sebagai eksplan dalam penelitian kultur antera, yaitu persilangan IR58025B x

Tabel 1. Hasil benih pada persilangan galur tetua dengan varietas unggul

Persilangan	Kode silangan	Jumlah benih (butir)
Galur pelestari x varietas unggul		
IR58025B x Memberamo	-	74
IR58025B x Sintanur	M1	48
IR58025B x Ciherang	-	165
IR58025B x IR64	-	64
IR62829B x Memberamo	-	613
IR62829B x Sintanur	-	218
IR62829B x Ciherang	M2	643
IR62829B x IR64	-	528
Galur pemulih kesuburan x varietas unggul		
IR53942 R x Ciherang	R1	52
BR 827-35 R x Ciherang	-	177
IR53942 R x Sintanur	-	56
BR 827-35 R x Sintanur	R2	91
IR53942 R x IR64	-	316
BR827-35 R x IR64	-	308
IR53942 R x Memberamo	-	297
BR827-35 R x Memberamo	-	273

- = belum diberi kode silangan karena belum digunakan untuk kultur antera

Sintanur dan IR62829B x Ciherang untuk pembentukan galur pelestari, serta persilangan IR53942R x Ciherang dan BR827-35R x Sintanur untuk pembentukan galur pemulih kesuburan.

Kultur Antera F1 Hasil Silangan Galur Pelestari atau Galur Pemulih Kesuburan dengan Varietas Unggul

Pengaruh media terhadap induksi kalus dan regenerasi tanaman disajikan pada Tabel 2 dan 3. Menurut Razdan (1993) frekuensi induksi kalus dan regenerasi-nya menjadi tanaman dikendalikan oleh banyak gen (gen minor/poligenik). Pada penelitian ini, jumlah kalus dan kalus menghasilkan tanaman yang dihasilkan oleh setiap genotipe berbeda-beda (Tabel 2). Jumlah kalus terbanyak dicapai oleh genotipe R2 (tanaman F1 hasil persilangan BR827-35 R x Sintanur) baik pada media yang diberi putresin (A1-A1R) maupun yang tanpa putresin (A2-A2R). Total kalus menghasilkan tanaman terbanyak juga dicapai oleh genotipe R2. Genotipe tanaman donor memang mempunyai peran penting dalam menentukan frekuensi produksi tanaman melalui kultur antera (Masyhudi *et al.*, 1997; Razdan, 1993; Chung, 1992).

Rasio auksin-sitokinin yang lebih tinggi diperlukan saat menginduksi kalus dan sebaliknya saat meregenerasikan kalus menjadi tanaman. Kombinasi 2,4-D atau NAA dan kinetin sering digunakan untuk meregenerasikan tanaman dari kalus pada kultur mikrospora padi *indica* (Cho dan Zapata, 1990). Dari penelitian ini, media yang diberi NAA dikombinasikan dengan kinetin dan ditambah putresin (A1-A1R) menghasilkan jumlah kalus

Tabel 2. Pengaruh media terhadap induksi kalus dan regenerasi tanaman

Donor	Media	Jumlah antera	Jumlah kalus	Jumlah KMT		TKMT	Jumlah tanaman		Total tanaman
				TH	TA		TH	TA	
M1	A1-A1R	18891	912	34	96	130	124	293	417
	A2-A2R	13029	636	14	24	38	66	120	186
	Total		1548	48	120	168	190	413	603
M2	A1-A1R	23496	1123	28	93	121	92	114	206
	A2-A2R	19686	379	7	38	45	25	66	91
	Total		1502	35	131	166	117	180	297
R1	A1-A1R	21719	948	8	148	155	19	548	567
	A2-A2R	13889	301	1	23	24	4	82	86
	Total		1249	9	171	179	23	630	653
R2	A1-A1R	20372	1435	43	105	148	134	299	433
	A2-A2R	14476	1325	34	59	93	115	133	248
	Total		2760	77	164	241	249	432	681

TH = tanaman hijau; TA = tanaman albino; TT = tanaman total; KMT = kalus menghasilkan tanaman; TKMT = total kalus menghasilkan tanaman

Tabel 3. Persentase keberhasilan kultur antera pada pembentukan galur pelestari dan pemulih kesuburan

Donor	Media	Persentase KMT	Persentase TH	Persentase TA	Rasio TH/TKMT	Efisiensi Media (%)
M1	A1-A1R	14,25	29,74	70,26	0,95	0,66
	A2-A2R	5,97	35,48	64,52	1,74	0,51
M2	A1-A1R	10,77	44,66	55,34	0,76	0,39
	A2-A2R	11,87	27,47	72,53	0,56	0,13
R1	A1-A1R	16,46	3,35	96,65	0,12	0,09
	A2-A2R	7,97	4,65	95,35	0,17	0,03
R2	A1-A1R	10,31	30,95	69,05	0,91	0,66
	A2-A2R	7,02	46,37	53,63	1,24	0,79

KMT = kalus menjadi tanaman; TH = tanaman hijau; TA = tanaman albino; TH/TKMT = tanaman hijau per total kalus menjadi tanaman. Efisiensi media = jumlah TH/jumlah antera x 100%

yang lebih tinggi (4418 butir) dibandingkan dengan media A2-A2R (mengandung 2,4-D) yang tanpa putresin (2641 butir). Demikian pula total kalus menghasilkan tanaman pada media A1-A1R (554 butir) lebih tinggi dibandingkan dengan media A2-A2R (200 butir). Penelitian Purwoko (2000) dan Dewi *et al.* (2001) menunjukkan bahwa penambahan putresin pada media N6 dan MS menghasilkan induksi kalus dan regenerasi tanaman hijau yang lebih baik dibandingkan dengan jenis poliamin lainnya.

Jumlah kalus yang dapat menghasilkan tanaman lebih sedikit dibandingkan jumlah kalus yang dihasilkan (Tabel 2), yaitu berkisar antara 5,97-16,46% (Tabel 3). Hal ini diduga karena tahap perkembangan butir tepung sari tidak seragam, walaupun praperlakuan dingin pada malai telah dilakukan. Suhu rendah ($5 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 8-11 hari dapat menyeragamkan stadia perkembangan butir tepung sari (Dewi *et al.*, 1994). Tahap

perkembangan butir tepung sari yang optimum untuk kultur antera adalah pada tahap pertengahan sampai akhir uninukleat (Chung, 1992). Pada kultur antera padi, praperlakuan pada malai sebelum antera dikulturkan terbukti dapat meningkatkan perubahan mikrospora yang semula pada lintasan gametofitik menjadi sporofitik atau androgenesis (Zapata *et al.*, 1983)

Pada penggunaan kultur antera untuk perbaikan tanaman, banyaknya tanaman hijau yang dapat diregenerasikan amat penting, karena jumlah tanaman hijau yang banyak akan mempercepat atau memperbesar kemungkinan bagi pe-mulia tanaman untuk memperoleh galur murni yang diinginkan (Purwoko, 2000). Efisiensi penggunaan kultur antera dalam program pemuliaan menjadi rendah bila tanaman hijau yang dapat diregenerasikan hanya sedikit, karena setiap individu tanaman hijau yang berasal dari butir sari yang berbeda akan merupakan individu/ genotipe yang unik (Zhou, 1996).

Pada penelitian ini, jumlah tanaman hijau terbanyak dicapai oleh genotipe R2 (249 tanaman), sedangkan jumlah tanaman albino terbanyak dihasilkan oleh genotipe R1 (630 tanaman). Baik tanaman hijau maupun albino tampak lebih ba-nyak dihasilkan oleh genotipe yang dikulturkan dalam media A1-A1R, yaitu media induksi dan regenerasi yang diberi putresin (Tabel 2). Tanaman albino, baik jumlah maupun persentasenya, tampak selalu lebih banyak dibandingkan tanaman hijau (Tabel 2 dan 3). Seperti penelitian sebelumnya, ternyata penambahan putresin pa-da media selain meningkatkan regeneran tanaman hijau juga meningkatkan rege-neran tanaman albino, sehingga secara keseluruhan meningkatkan jumlah tanam-an total (Dewi *et al.*, 2001). Hal ini juga ditunjukkan oleh efisiensi penggunaan media, yaitu media A1-A1R yang mengandung 10^{-3} M putresin umumnya meng-hasilkan jumlah regeneran tanaman hijau yang lebih banyak dibandingkan dengan media A2-A2R (Tabel 2).

Jumlah tanaman hijau yang dihasilkan oleh kalus yang menghasilkan

Tabel 4. Galur haploid ganda spontan yang dihasilkan melalui kultur antera untuk galur pelestari dan galur pemulih kesuburan

Galur	Kode nomor galur	Jumlah
Maintainer	M1-1 s/d M1-27	27
	M2-11 s/d M2-16	16
Subtotal		43
Restorer	R1-1 s/d R1-4	5
	R2-1 s/d R2-49	50
Subtotal		55
Total		98

tanaman berkisar antara 0,12 sampai 1,74 tanaman (Tabel 2). Hal ini hanya menunjukkan bahwa jumlah tanaman hijau yang dihasilkan per kalus dapat lebih dari satu. Tanaman hijau yang dihasilkan dari kalus yang sama pada umumnya menunjukkan karakter yang sama, kecuali jika terjadi mutasi, sehingga tanaman yang dihasilkan dari kalus yang sama dianggap satu galur yang sama (Zhou, 1996). Dari penelitian ini dapat dihasilkan 98 galur yang berasal dari tanaman haploid ganda spontan yang dihasilkan (Tabel 4).

KESIMPULAN

Dari persilangan galur pelestari atau galur pemulih kesuburan dengan varietas unggul, telah diperoleh benih dengan jumlah yang berbeda-beda tergantung pada genotipe yang disilangkan. Media A1-A1R, yaitu media induksi dan regenerasi yang diberi 10^{-3} M putresin, lebih efisien dalam menghasilkan jumlah kalus, jumlah tanaman hijau, jumlah tanaman albino, dan jumlah tanaman total dibandingkan dengan media A2-A2R, yaitu media induksi yang diberi 2 mg 2,4-D/l. Dari hasil kultur antera tanaman F1 tersebut telah diperoleh tanaman haploid ganda spontan yang terdiri dari 43 galur pelestari/*Maintainer* dan 55 galur pemulih kesuburan/*Restorer*.

SARAN

Galur haploid ganda yang dihasilkan dianjurkan untuk dikarakterisasi lebih lanjut baik karakter agronominya maupun ketahanannya terhadap hama (wereng coklat) dan penyakit (bakteri hawar daun).

DAFTAR PUSTAKA

- Chu, C.C. 1978.** The N6 media and its application to anther culture of cereal crops. Proc. Symp. Plant Tissue Culture. Peking, May 25-30. Science Press. Peking. p. 43-50.
- Chung, G.S. 1992.** Anther culture for rice improvement in Korea. In K. Zheng and T. Murashige (*Eds.*). Anther Culture for Rice Breeders. Seminar and Training for Rice anther Culture at Hangzhou, China. October 1992. p. 8-37.
- Cho, M.S. and F.J. Zapata. 1990.** Plant regeneration from isolated microspore of indica rice. Plant Cell Physiol. 31:881-885.
- Dewi, I.S., A.D. Ambarwati, M.F. Masyhudi, T. Soewito, dan Suwarno. 1994.** Induksi kalus dan regenerasi kultur antera padi (*Oryza sativa* L.). Risalah Hasil Penelitian Tanaman Pangan 2:136-143.
- Dewi, I.S., I. Hanarida, and S. Rianawati. 1996.** Anther culture and its application for rice improvement program in Indonesia. Indon. Agric. Res. and Dev. J. 18(3):51-56.

- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, dan I. Hanarida. 2001.** Peningkatan regenerasi tanaman hijau pada kultur antera padi Taipei-309 dan persilangan Taipei-309 x Asemendi dengan poliamin. Prosiding Kongres IV dan Simposium Nasional Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia, 23-24 Oktober 2001. PERIPI Komda Yogyakarta dan Faperta UGM, Yogyakarta.
- Fehr, W.R. 1987.** Principles of cultivar development. Vol. I. McGraw-Hill, inc, NY. 536 p.
- Hu, H. 1985.** Use of haploids in crop improvement. *In* Biotechnology in International Agricultural Research. Proceedings of The Inter-Center Seminar on International Agricultural Research Centers (IARCs) and Biotechnology, IRRI, Philippines, 23-27 April 1984. IRRI, Manila, Philippines. p. 75-84.
- Li, M.F. 1992.** Anther culture breeding of rice at the CAAS. *In* K. Zheng and T. Murashige (Eds.). Anther Culture for Rice Breeders. Proceedings of Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China. October 1992. p. 75-86.
- Masyhudi, M.F., S. Tjokrowidjoyo, S. Rianawati, dan I.S. Dewi. 1997.** Regenerasi kultur antera beberapa tanaman padi sawah di Indonesia. Jurnal Penelitian Pertanian 16:77-85.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiol 15:473-493.
- Purwoko, B.S. 2000.** Penggunaan poliamin untuk meningkatkan regenerasi tanaman hijau pada kultur antera padi dan aplikasinya dalam program pemuliaan padi. Laporan Penelitian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Razdan, M.K. 1993.** An introduction to plant tissue culture. Oxford & IBH Publishing Co., Ltd. New Delhi.
- Satoto, B. Suprihatno, dan B. Sutaryo. 1994.** Heterosis dan variasi genetik berbagai karakter hibrida padi. Media Penelitian Sukamandi 15:6-11.
- Suprihatno, B. dan Satoto. 1986.** Vigor hibrida untuk hasil dan komponen hasil beberapa kombinasi F1 hibrida. Media Penelitian Sukamandi 3:5-12.
- Suprihatno, B., B. Sutaryo, and T.S. Silitonga. 1994.** Hybrid rice research in Indonesia. Hybrid rice technology: New development and future prospect. *In* Selected papers from the International Rice Research Conference. IRRI, Manila, Philippines. p. 195-205.
- Suprihatno, B., B. Sutaryo, Satoto, P.M. Yuniati, dan S.T.W. Utomo. 1998.** Hasil-hasil penelitian padi hibrida di Indonesia. Makalah disampaikan

pada Seminar Program Produksi Benih Padi Hibrida. Jakarta, 29 Desember 1998. 20 hlm.

- Watanabe, K. 1997.** Phylogeny and geographical distribution of genus *Oryza*. Genomic constitution of genus *Oryza* in Div. I. Origin and differentiation of rice. *In* T. Matsuo, Y. Futsuhara, F. Kikuchi, and H. Yamaguchi (*Eds.*). Science of The Rice Plant. Vol. 3. Genetics. Food and Agriculture Policy Research Center, Tokyo, Japan. p. 29-39 Chapt. I.
- Yan, J.G., Q.Z. Xue, and Y.X. Wang. 1996.** Use of androgenesis in intersubspecific hybrid rice breeding. *Plant Breeding* 115:301-304.
- Yuan, L.P. 1994.** Increasing yield potential in rice by exploitation of heterosis. *In* Virmani, S.S. (*Ed.*). Hybrid Rice Technology New Development and Future Prospects. Selected papers from the Internat. Rice Res. Conf. IRRI. Los Banos, Philippines. p. 1-6.
- Zapata, F.J. 1985.** Rice anther culture at IRRI. *In* Biotechnology in Internat. Agric. Res. IRRI, Los Banos, Philippines. p. 85-89.
- Zapata, F.J., G.S. Khush, J.P. Crill, M.H. Neu, R.O. Romero, L.B. Torrizo, and M. Alejar. 1983.** Rice anther culture at IRRI. *In* Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement. Proceedings of a Workshop cosponsored by The Institute of Genetics, Acad. Sinica and The Internat. Rice Res. Inst. Science Press, Beijing, China. p. 27-46.
- Zhou, H. 1996.** Genetics of green plantlet regeneration from anther culture of cereals. *In* Jain, S.M., S.K. Sopory, and R.E. Veilleux (*Eds.*). *In Vitro* Haploid Production in Higher Plants. Vol. 2. Applications. Kluwer Acad. Publ. Netherlands. p. 169-187.