

Evaluasi Tanaman Padi Transgenik Balitbio terhadap Hama Penggerek Batang

Iswari S. Dewi, Ida H. Somantri, Diani Damayanti, Aniversari Apriana, dan Tri J. Santoso

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Keberhasilan dalam memproduksi tanaman transgenik adalah dengan diper-olehnya ekspresi gen yang disisipkan dan munculnya fenotipe baru yang diinginkan. Salah satu metode yang biasa dilakukan adalah dengan pengujian secara langsung (*bioassay*). Peneliti di Balitbio telah menghasilkan tanaman putatif transgenik yang mengandung gen *cryIA(b)*. Tujuan jangka panjang penelitian ini adalah mendapatkan tanaman padi transgenik tahan hama peng-gerek batang. Dari hasil penelitian pada tanaman putatif transgenik T1 asal cv. Taipei-309 terhadap sundep, ditemukan tanaman dengan kategori sangat tahan (10 tanaman T-1C dan 1 tanaman T-2H), resisten (3 tanaman T-1C), dan agak tahan (2 tanaman T-1C, 2 tanaman T-1A, dan 1 tanaman T-2H). Beberapa tanaman menunjukkan kategori agak peka (8 tanaman) dan peka (5 tanaman), sedangkan 16 tanaman sangat peka terhadap serangan hama penggerek saat pertumbuhan vegetatif. Dari bioasai terhadap beluk, ditemukan tanaman yang termasuk kategori sangat tahan, yaitu masing-masing 15 tanaman T-1C dan 6 tanaman T-2H. Hanya 1 tanaman T-2H yang termasuk agak tahan dan tidak ada tanaman yang tahan. Beberapa tanaman menunjukkan kategori agak peka (6 tanaman), peka (7 tanaman), dan sangat peka (26 tanaman). Penelitian untuk menguji tanaman putatif transgenik lainnya masih akan dilangsungkan.

Kata kunci: Tanaman transgenik, bioasai, penggerek batang padi

ABSTRACT

The success in transgenic plants production occurred when plants express the inserted gene and interest new phenotype appears. Research team in RIFCB had succeeded in making putative rice transgenic plants containing *cryIA(b)* gene. The long-term objective of the research is to obtain transgenic rice resistance to stem borer. The observation in putative transgenic T1 Taipei-309 on sundep (*dead-hearts*) indicated that several plants were highly resistance (10 plants of T-1C and 1 plant of T-2H), resistance (3 plants of T-1C), and moderately resistance (2 plants of T-1C, 2 plants of T-1A, and 1 plant of T-2H). Others showed moderately susceptible (8 plants) and susceptible (5 plants), while 16 plants were highly susceptible to stem borer attack at vegetative phase. The observation on beluk (*white-heads*) indicated that several plants were highly resistance (15 plants of T-1C and 1 plant of T-2H). Only 1 plant of T-2H was moderately resistance. No plants can be identified as resistance. Several other plants were moderately susceptible (6 plants), susceptible (7 plants), and highly susceptible (26 plants). The research in bioassay of other putative transgenic rice was still on going.

Key words: Transgenic rice, bioassay, stemborer

PENDAHULUAN

Penggerek batang padi merupakan salah satu hama utama yang menyebabkan kerusakan dan kerugian hasil padi di Indonesia dan beberapa negara Asia. Kehilangan hasil akibat serangan hama ini berkisar antara 60-90% (Pathak dan Khan, 1994). Di Indonesia, luas serangan akibat hama tersebut sepuluh tahun terakhir mencapai puncaknya pada musim hujan tahun 1989/1990 di mana tercatat seluas 172.933 ha terserang dan 15.000 ha di antaranya puso (Damayanti *et al.*, 1991).

Di antara 6 spesies hama penggerek batang padi di Indonesia, penggerek batang padi putih (*Scirpophaga innotata* Wlk.) dan penggerek batang padi kuning (*S. incertulas* Wlk.) merupakan spesies yang dominan. Hama penggerek batang, terutama jenis penggerek padi putih diketahui dapat berada terus menerus di per-tanaman padi tanpa diapause (*short cycle*). Kemampuannya untuk berkembang biak tanpa diapause disebabkan oleh tersedianya makanan secara terus menerus akibat pola tanam yang tidak teratur, tersedianya singgang tanaman, dan meningkatnya intensitas tanam (Syam dan Hermanto, 1995). Pemakaian insektisida untuk pengendalian hama ini tidak berhasil, karena larva langsung masuk ke dalam batang padi segera setelah telur menetas dan terus berkembang melalui beberapa tahapan sampai menjadi pupa.

Varietas unggul yang tahan terhadap hama penggerek batang padi merupakan salah satu alternatif yang diperlukan untuk mengendalikan hama tersebut. Sampai saat ini belum berhasil ditemukan varietas yang benar-benar tahan terhadap hama tersebut (Syam dan Hermanto, 1995). Para peneliti di India dan IRRI menduga beberapa jenis padi liar mempunyai ketahanan terhadap penggerek padi kuning (Heinrich, 1980). Hasil penelitian di Indonesia menunjukkan bahwa sifat ketahanan tersebut ternyata lebih bersifat fisik, karena ukuran batang yang kecil tidak disukai oleh hama penggerek batang (Soejitno *et al.*, 1995).

Penggunaan tanaman transgenik di dalam pemuliaan tanaman padi memungkinkan untuk memasukkan gen-gen baru yang berasal dari sumber lain (*heterologous source*) seperti mikroba atau hewan (Koziel *et al.*, 1996). Melalui rekayasa genetika, Balitbio telah berhasil mendapatkan tanaman putatif transgenik yang mengandung gen baru berasal dari *Bacillus thuringiensis* (Hanarida *et al.*, 2000). Gen *cryIA(b)* yang diintroduksi adalah gen pengkode Bt toksin yang efektif terhadap hama dari golongan Lepidoptera, sehingga dapat digunakan untuk mengendalikan hama penggerek batang (Wunn *et al.*, 1996).

Keberhasilan dalam memproduksi tanaman transgenik adalah dengan di-perolehnya ekspresi gen introduksi tersebut dan munculnya fenotipe baru yang diinginkan (Koziel *et al.*, 1996). Satu hal yang belum dapat dikendalikan di dalam rekayasa genetika adalah tempat gen introduksi tersebut terintegrasi di dalam genom tanaman setelah dilakukannya transfer gen. Posisi integrasi

gen introduksi di dalam genom akan menentukan dapat atau tidaknya gen tersebut terekspresi. Struktur kromosom di mana gen terintegrasi sangat menentukan, dalam hal ini apabila gen tersebut berada pada struktur heterokromatin maka sangat sedikit kemungkinan gen dapat diekspresikan, tetapi sebaliknya bila gen tersebut terintegrasi pada struktur eukromatin. Hal yang dikenal sebagai *positional effect* inilah yang akan menghasilkan variasi di dalam level ekspresi gen introduksi pada populasi tanaman transgenik yang dihasilkan (Mlynarova *et al.*, 1994).

Selain *positional effect*, hal lain yang dapat menyebabkan gen introduksi tidak dapat berekspresi adalah fenomena gen *silencing*. Penyebab gen *silencing* antara lain akibat terlalu banyaknya kopi gen yang sama terintegrasi sehingga dapat merangsang metilasi pada *transcriptional event* atau merangsang *turnover* dari RNA serta munculnya RNase pada *post-transcriptional event* (Kumpatla *et al.*, 1998). Walaupun data Southern Blot dan PCR telah menunjukkan hasil positif, data tersebut baru menjamin bahwa gen yang diintroduksi telah terintegrasi di dalam genom sebanyak sekian kopi, tetapi tidak ada jaminan bahwa gen tersebut dapat terekspresi dan akan menimbulkan fenotipe yang diinginkan. Dengan demikian, evaluasi lebih lanjut melalui uji secara langsung terhadap hama penggerek batang (*bioassay*) hasil Balitbio perlu dilakukan.

Penelitian bertujuan untuk mendapatkan tanaman padi transgenik generasi T1 tahan hama penggerek batang.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di laboratorium dan rumah kaca Kelti Biologi Molekuler, Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor pada bulan April-Desember 2001.

Bahan tanaman yang digunakan untuk pemeliharaan hama penggerek batang adalah populasi tanaman IR64. Sedangkan untuk uji bioasai digunakan 3 nomor tanaman putatif transgenik T1, yaitu T-1A, T-1C, dan T-2H dari varietas Taipei-309 (masing-masing 20 tanaman). Sebagai kontrol digunakan tanaman non transgenik (*wild type* Taipei-309).

Bahan lain yang digunakan adalah tabung reaksi ukuran diameter 1 cm dan panjang 15 cm, akuades, pinset, kuas, kaca pembesar, mikroskop. Serangga yang digunakan adalah penggerek batang padi kuning (*S. incertulas* Wlk.) yang diambil langsung dari lapang.

Populasi tanaman transgenik generasi T1 dari Taipei-309 diuji secara individual untuk ketahanan terhadap sundep dan beluk. Sebagai kontrol peka digunakan tanaman Taipei-309 nontransgenik. Tahapan pelaksanaannya adalah sebagai berikut:

1. Persiapan media tanam dan penanaman di Fasilitas Uji Terbatas (FUT) Balitbio

- a. Tanah sawah yang telah dipupuk lengkap (90 kg N, 90 kg P₂O₅, dan 90 kg K₂O/ha) ditempatkan pada ember plastik dan ditanami satu bibit padi tanaman transgenik dan nontransgenik umur 3 minggu setelah tanam (MST).
 - b. Penanaman dilakukan per nomor tanaman.
 - c. Pemeliharaan tanaman dilakukan terhadap hama dan penyakit dengan pestisida yang diperlukan.
 - d. Pada umur 4 MST, tanaman yang akan diuji dibagi tiga untuk pengujian terhadap sundep, beluk, dan produksi benih.
2. Pemeliharaan populasi hama penggerek batang di rumah kaca
- Karena hama penggerek batang padi belum dapat diperbanyak di laboratorium, maka serangga harus selalu dikoleksi dari hasil survei di lapang. Serangga tersebut dipelihara di dalam rumah kaca pada pertanaman populasi IR64 yang telah disiapkan. Telur serangga dipelihara sampai menghasilkan larva instar 1.
3. Inokulasi larva penggerek ke tanaman yang akan diuji
- a. Inokulasi dilakukan pada tanaman transgenik umur 6 MST untuk pengamatan sundep dan 9 MST untuk pengamatan beluk.
 - b. Inokulasi dilakukan dengan cara memasukkan 5 ekor larva instar 1 ke setiap anakan pada rumpun padi di bagian pangkal daun dekat batang dengan maksud agar larva merayap sendiri ke dalam batang tanaman padi.
4. Pengamatan
- a. Jumlah anakan dan intensitas serangan hama diamati pada saat 2 minggu setelah inokulasi (MSI)
 - b. Jumlah larva dan pupa yang hidup, dilakukan dengan jalan membelah batang padi tersebut.
 - c. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah larva mati, jumlah larva hidup, ukuran larva, dan larva hilang
- Skoring untuk ketahanan terhadap hama dihitung berdasarkan persentase intensitas serangan.
- a. Tingkat ketahanan terhadap serangan hama penggerek pada tahap vegetatif (sundep), yaitu sangat tahan = 0, tahan = 1-20, agak tahan = 21-40, sangat peka = 81-100, peka = 61-80, dan agak peka = 41-60
 - b. Tingkat ketahanan terhadap serangan hama penggerek pada tahap generatif (beluk), yaitu sangat tahan = 0, tahan = 1-10, agak tahan = 11-25, sangat peka = 61-100, peka = 41-60, dan agak peka = 26-40

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini level ekspresi gen introduksi pada tanaman putatif trans-genik sangat bervariasi, sehingga dari bioasai ditemukan kategori

tanaman sangat peka (intensitas serangan 81-100% pada sundep atau 61-100%, pada beluk), sam-pai sangat tahan (intensitas serangan 0%). Bioasai ini dilakukan per nomor tanam-an terhadap tanaman yang berasal dari rumpun yang sama. Hasil uji bioasai ketahanan tanaman padi putatif transgenik T1 terhadap serangan sundep dan beluk disajikan pada Tabel 1, 2, 3, dan 4. Tampak bahwa tanaman putatif transgenik yang diuji mengekspresikan tingkat ketahanan yang berbeda-beda pada setiap nomor, baik untuk ketahanan terhadap sundep maupun beluk.

Pada bioasai untuk ketahanan terhadap sundep (Tabel 1), rata-rata >70% anakan terserang sundep, kecuali nomor T-1C (hampir 20% terserang). Diperoleh 10 tanaman yang termasuk kategori sangat tahan, 3 tanaman tahan dan 2 tanaman agak tahan pada nomor T-1C. Masing-masing terdapat satu tanaman tahan dan agak tahan pada T-2H, sedangkan pada T-1A hanya ada 2 tanaman dengan kategori agak tahan (Tabel 2). Beberapa tanaman menunjukkan kategori agak peka (8 tanaman) dan peka (5 tanaman), sedangkan 16 tanaman lainnya termasuk kategori sangat peka terhadap serangan hama penggerek saat pertumbuhan vegetatif. Dari persentase intensitas serangan yang besar (95,9%), tampak bahwa 27 tanaman *wildtype* Taipei-309 yang digunakan sebagai kontrol pada pengamatan sundep hanya mempunyai dua kategori, yaitu peka (3 tanaman) dan sangat peka (24 tanaman).

Bioasai terhadap serangan hama penggerek saat pertumbuhan generatif dilakukan pada tanaman yang akan memasuki masa bunting (*booting stage*), sehingga masih terdapat anakan yang terserang sundep selain terserang beluk (Tabel 3). Intensitas serangan hama penggerek batang yang mengakibatkan beluk berkisar antara 7-78%. Intensitas serangan terendah (6,56%) ditemukan pada anakan tanaman T-1C sedangkan tertinggi (77,6%) dapat diamati pada anakan tanaman T-1A.

Pada tanaman sangat tahan, yaitu nomor T-1C (15 tanaman) dan T-2H (6 tanaman), tanaman sama sekali tidak menunjukkan gejala serangan (Tabel 4). Satu tanaman pada T-2H menunjukkan kategori agak tahan, sedangkan tanaman lainnya menunjukkan kategori agak peka (3 tanaman T-1C, 1 tanaman T1-A, dan 2 tanaman T2-H), kategori peka (1 tanaman T-1C, 3 tanaman T-1A, dan 3 tanaman T-2H), dan sangat peka (1 tanaman T-1C, 14 tanaman T-1A, dan 11 tanaman T-2H).

Seperti bioasai untuk sundep, pada bioasai untuk beluk juga tidak diperoleh tanaman kontrol (non transgenik), yaitu *wild type* Taipei-309, yang termasuk kategori sangat tahan, tahan, agak tahan, dan agak peka. Tanaman hanya menunjukkan 2 macam kategori, yaitu peka (2 tanaman) dan sangat peka (23 tanaman). Hal ini menunjukkan bahwa prosedur bioasai dapat dipertanggungjawabkan, karena rataan intensitas serangan yang tinggi, yaitu

Tabel 1. Aktivitas insektisidal tanaman padi putatif transgenik Taipei-309 generasi T1 terhadap penggerek batang pada bunting pada fase generatif (beluk) tanaman transgenik Taipei-309 generasi T1 terhadap penggerek batang padi kuning pada fase generatif (beluk)

Nomor tanaman	Total anakan	Jumlah anakan terserang sundep	Persentase anakan terserang sundep	Jumlah ulat yang diinfestasi ¹	Jumlah ulat yang hidup (%)	Ukuran panjang larva (mm)
T-1C	15	0	0	0	0	6,67
T-1A	20	4	20	395	65 (16,3)	5,98
T-2H	18	0	0	180	187 (24,2)	7,86
Kontrol	23	0	0	308	192 (39,5)	6,89
Kontrol	25	0	0	260	205 (39,7)	8,89
Total	86	251	143	-	1255	405 (32,3)

¹Infestasi 5 larva/anakan

Tabel 2. Tingkat ketahanan tanaman padi putatif transgenik Taipei-309 generasi T1 terhadap penggerek batang pada fase generatif (beluk)

Tabel 4. Tingkat ketahanan tanaman padi putatif transgenik Taipei-309 generasi T1 terhadap penggerek batang pada fase generatif (beluk)

Nomor tanaman	Jumlah tanaman dengan deskripsi ketahanan						Total tanaman
	ST	T	AT	AP	P	SP	
T-1C	10	0	0	5	3	7	25
T-1A	0	0	0	2	0	18	20
T-2H	16	0	5	2	5	19	47
Kontrol	29	0	0	0	7	26	62
Kontrol	19	0	0	0	0	23	42

ST = sangat tahan, T = tahan, AT = agak tahan, AP = agak peka, P = peka, SP = sangat peka

95,9% pada pengamatan sundep dan 83% pada beluk.

Dari jumlah larva yang diinokulasikan tampak bahwa larva yang dapat terus hidup hanya sedikit, yaitu 22,0% pada pengujian sundep (Tabel 1) dan 32,3% pada pengujian beluk (Tabel 3). Selain akibat pengaruh insektisidal dari racun Bt yang diekspresikan oleh tanaman yang termasuk kategori agak tahan sampai sangat tahan, diduga pengaruh suhu rumah kaca yang cukup tinggi saat inokulasi ($\pm 35^{\circ}\text{C}$) menyebabkan sebagian besar larva yang belum masuk ke dalam batang mengalami kematian. Walaupun sukar untuk menghitung berapa jumlah larva yang mati dan berapa jumlah larva yang hilang, tetapi pada tanaman yang sangat tahan didapati larva yang mati (hitam dan kering) dekat lubang gerakan, sedangkan ukuran larva masih sama seperti ketika diinokulasikan, yaitu larva instar 1 (Gambar 1). Diduga tanaman yang sangat tahan tersebut dapat mengekspresikan protein *cryIA(b)* dalam jumlah yang cukup sehingga bersifat insektisidal terhadap hama penggerek yang menyerang.

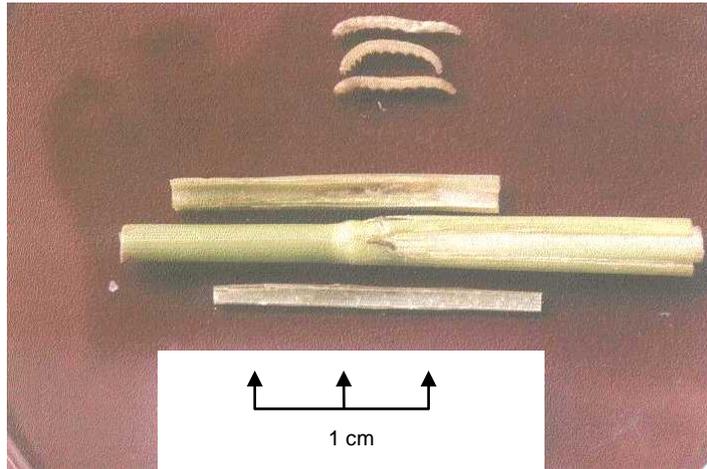
Pada Tabel 5 disajikan nomor tanaman yang mempunyai kategori agak tahan sampai sangat tahan baik terhadap sundep maupun beluk, beberapa nomor pada tanaman T1 yang berasal dari kalus T-1C mempunyai ketahanan terhadap hama penggerek padi kuning baik pada saat vegetatif maupun generatif.

Dari 48 tanaman pada uji sundep dan 61 tanaman pada uji beluk yang termasuk kategori agak tahan sampai tahan ada 19 tanaman (39,6%) pada uji sundep dan 22 tanaman (36,1%) pada uji beluk. Menurut Mlynarova *et al.* (1994), posisi integrasi gen introduksi (dikenal sebagai *positional effect*) di dalam genom akan menentukan dapat atau tidaknya gen tersebut terekspresi. Analisis PCR dapat menunjukkan keberadaan gen introduksi dalam sel tanaman tetapi tidak dapat menentukan posisinya. Gen yang terintegrasi pada struktur eukromatin pada kromosom akan dapat diekspresikan. *Positional effect* merupakan kendala yang belum dapat dikendalikan di dalam rekayasa genetika. Selain *positional effect*, hal lain yang dapat menyebabkan gen

Tabel 5. Hasil uji ketahanan terhadap serangan hama penggerek batang padi kuning (*S. incertulas* Wlk.)

Tanaman uji	Nomor tanaman	
	Sundep	Beluk
T-1C		
Sangat tahan	7, 9, 11, 12, 13a, 18, 25a, 25b, 30, 32	3, 4, 5, 7, 8, 9, 12, 13a, 13b, 18, 22, 25b, 27, 30, 31
Tahan	4, 3, 22	-
Agak tahan	5, 26	-
T-2H		
Sangat tahan	5	2, 7, 9, 10, 11, 25
Agak tahan	20	1
T-1A		
Agak tahan	29, 19	-

Angka yang dihitamkan menunjukkan bahwa kedua nomor tanaman tersebut sangat tahan terhadap sundep dan beluk



^ = larva instar 1 mati kering

Gambar 1. Serangan hama penggerek batang padi kuning (*S. incertulas* Wlk.) pada batang tanaman putatif transgenik Taipei-309

introduksi tidak dapat berekspresi adalah fenomena pembungkaman gen (dikenal sebagai *gene silencing*). Penyebab *gene silencing* antara lain terlalu banyaknya kopi gen yang sama terintegrasi sehingga dapat merangsang metilasi pada saat transkripsi atau merangsang *turnover* dari RNA serta munculnya RNase pada paska transkripsi (Meyer, 1995; Kumpatla *et al.*, 1998). Pembuktian melalui analisis terhadap ada tidaknya protein yang dihasilkan diperlukan untuk mengetahui adanya *positional effect* atau *gene silencing*. Uji Western Blot pada tanaman transgenik akan memaparkan dapat tidaknya gen yang diintroduksi (*transgene*) berekspresi, dalam hal ini mengekspresikan protein 60 kDa dari gen *cryIA(b)*. Wunn *et al.* (1996) mendapatkan bahwa jumlah protein *cryIA(b)* yang bervariasi pada daun tanaman padi transgenik yang berbeda-beda menghasilkan perbedaan dalam tingkat ketahanan tanaman tersebut terhadap hama penggerek batang dari famili Lepidoptera. Hal ini sejalan dengan pendapat Wu (1997) bahwa perbedaan tingkat ekspresi gen *cryIA(b)* menyebabkan terjadinya tingkat ketahanan yang bervariasi pada populasi tanaman transgenik yang diuji.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Dari bioasai tanaman putatif transgenik T1 asal varietas Taipei-309 terhadap sundep, ditemukan tanaman dengan kategori sangat tahan (10 tanaman T-1C dan 1 tanaman T-2H), tahan (3 tanaman T-1C), agak tahan (2 tanaman T-1C, 2 tanaman T-1A, dan 1 tanaman T-2H), agak peka (8 tanaman), dan peka (5 tanaman), sedangkan 16 tanaman lainnya

- termasuk sangat peka terhadap serangan hama penggerek saat pertumbuhan vegetatif.
2. Dari bioasai tanaman putatif transgenik T1 asal Taipei-309 terhadap beluk, ditemukan tanaman yang termasuk kategori sangat tahan (15 tanaman T-1C dan 6 tanaman T-2H), agak tahan (1 tanaman T-2H), agak peka (6 tanaman T-2H), peka (7 tanaman), dan sangat peka (26 tanaman).

Saran

1. Teknik bioasai perlu diperbaiki agar dapat memberikan hasil pengujian yang lebih baik. Penggunaan kurungan dari plastik milar dianjurkan untuk meng-isolasi tanaman uji.
2. Perlu dilakukan analisis terhadap level ekspresi protein gen *cryIA(b)* melalui uji Western Blot untuk mengetahui penyebab bervariasinya hasil bioasai.

DAFTAR PUSTAKA

- Damayanti, D., E. Soenarjo, Waluyo, dan Nurbaeti. 1991.** Pengendalian alami penggerek batang padi kuning *S. incertulas* Walker oleh parasitoid telur. Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan Bogor (II). 19-20 Februari 1991.
- Hanarida, I., A.D. Ambarwati, I.S. Dewi, A. Apriana, T.J. Santoso, D. Damayanti, dan E. Listanto. 2000.** Evaluasi tanaman padi transgenik tahan hama penggerek batang. Laporan Hasil Penelitian Balitbio, Bogor. 65 hlm.
- Heinrich, E.A. 1980.** Varietal resistant to the brown planthopper and yellow stemborer. *In Rice Improvement in China and Other Asian Countries.* IRRI and Chinese Acad. Agric. Sci. p. 195-218.
- Koziel, M.D., N.B. Carrozi, and N. Dessai. 1996.** Optimizing expression of transgenes with an emphasis on post-transcriptional events. *Plant Mol. Biol.* 32:393-405.
- Kumapatla, S.P., M.B. Chandrasekharan, L.M. Iyer, G. Li, and T.C. Hall. 1998.** Genome intruder scanning and modulation system and transgene silencing. *Trend in Plant Sci.* (3)3:97-104.
- Meyer, P. 1995.** Understanding and controlling transgene expression. *Tibtech.* 13:332-337.
- Mlynarova, L., A. Loonen, J. Heldens, R.C. Jansen, P. Keiser, W.J. Stiekema, and J.P. Nap. 1994.** Reduced position effect in mature transgenic plant conferred by the chicken lysozyme matrix-associated region. *The Plant Cell* 6:417-426.

- Pathak, M.D. and Z.R. Khan. 1994.** Insect pests of rice. International Rice Research Institute. The Phillipines.
- Soejitno, J., I. Hanarida, and Bahagiawati. 1995.** Evaluation of several wild rice to rice stemborer (*Scirpophaga innotata*). Makalah Balittan Bogor No. 38.
- Syam, M. dan Hermanto. 1995.** Teknologi produksi padi mendukung swasembada beras. BPPP-Puslitbangtan. 62 hlm.
- Wu, C., Y. Fan, C. Zhang, N. Oliva, and S.K. Datta. 1997.** Transgenic fertile japonica rice plant expression a modified *cryIA(b)* gene resistant to yellow stemborer. Plant Cell Rep. 17:129-132.
- Wunn, J., A. Kloti, P.K. Burkhardt, C.G.C. Biswas, K. Lauris, V.A. Iglesias, and I. Potrykus. 1996.** Transgenic indica rice breeding line IR58 expressing a synthetic *cryIA(b)* gene from *Bacillus thuringiensis* provides effective insect pest control. Bio/Technology 14:171-176.