

# Pengaruh Introgresi Locus *Pup1* terhadap Pertumbuhan Bibit Padi pada Kondisi Kahat Fosfor (Effect of Introgression of *Pup1* Locus on Rice Seedling under Phosphorus Deficiency)

Nurul Hidayatun\* dan Joko Prasetyono

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia  
Telp. (0251) 8622833; Faks. (0251) 8622833; \*E-mail: nurulhi23@yahoo.com

Diajukan: 30 Agustus 2018; Direvisi: 14 Desember 2018; Diterima: 28 Desember 2018

## ABSTRACT

The lack of soil-phosphorus (P) element will result in plant growth retardation. Plants could survive in P deficiency stress by increasing the ability of P uptake or by increasing the efficiency in the P utilization. The aims of this study were to understand genetic composition of rice genotypes possessing *Pup1* locus and to know root and leaf growth responses at different P availability condition. The three rice genotypes (IR74, IR74-*Pup1*, and Kasalath) were analyzed for their genetic composition using SNP markers. The phenotypic experiment was arranged using a Completely Randomized Design with four replications and performed hydroponically in nutrient solution with different availability of P. The result showed that IR74-*Pup1* had 84.4% similarities to its parent (IR74) with 13.6% of donor segments, where the *Pup1* locus located. The influence of *Pup1* locus introgression on total length, surface area, diameter, and volume of the root varied at each growth stage. IR74 and IR74-*Pup1* had root and leaf growth restriction on low P, but *Pup1* locus introgression showed better growth performance, both in normal P and in low P conditions. The introgression of *Pup1* locus increases plant ability to reduce the impact of growth inhibition caused by P deficiency.

**Keywords:** Rice, P deficiency, *Pup1* locus, hydroponic screening, SNP marker.

## ABSTRAK

Kekurangan unsur Fosfor (P) pada tanah akan berakibat terhambatnya pertumbuhan tanaman. Tanaman bertahan hidup dalam cekaman kekurangan P dengan cara meningkatkan kemampuan penyerapan P dan meningkatkan efisiensi pemanfaatannya. Penelitian ini bertujuan mengetahui komposisi genetik genotipe padi yang memiliki locus *Pup1* dan respons pertumbuhan akar dan daun pada kondisi ketersediaan P yang berbeda. Tiga genotipe padi, yaitu IR74, IR74-*Pup1*, dan Kasalath, diuji dengan menggunakan marka *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) untuk mengetahui komposisi genetiknya. Percobaan respons tanaman padi terhadap kahat P dirancang dengan Rancangan Acak Lengkap dengan empat ulangan dan dilakukan secara hidroponik dalam larutan hara Yoshida yang diperlakukan dengan kondisi ketersediaan P yang berbeda. Hasil *genotyping* menggunakan marka SNP menunjukkan bahwa genotipe IR74-*Pup1* memiliki tingkat kesamaan sebesar 84,4% dengan tetuanya (IR74) dan segmen donor (lokus *Pup1*) sebesar 13,6%. Pengaruh introgresi lokus *Pup1* terhadap pertumbuhan panjang total, luas permukaan, diameter, dan volume akar bervariasi pada setiap stadia pertumbuhan. Genotipe IR74 dan IR74-*Pup1* mengalami hambatan pertumbuhan akar dan daun pada kondisi kahat P, namun introgresi lokus *Pup1* memberikan performa pertumbuhan yang lebih bagus, baik pada kondisi P tersedia maupun kahat P. Keberadaan lokus *Pup1* secara nyata meningkatkan kemampuan tanaman dalam mengurangi dampak penghambatan pertumbuhan yang diakibatkan oleh kahat P.

**Kata kunci:** Padi, kahat P, lokus *Pup1*, penapisan secara hidroponik, marka SNP.

## PENDAHULUAN

Fosfor (P) merupakan salah satu unsur hara yang esensial untuk pertumbuhan tanaman. P termasuk unsur makro nutrisi tanaman yang dibutuhkan dalam jumlah yang cukup besar. P dibutuhkan oleh tanaman untuk berbagai fungsi penting, baik sebagai bagian dari komponen organ tanaman (terintegrasi dalam berbagai organ akar, daun, batang, buah, dan biji) maupun fungsi metabolik (ikut dalam proses-proses kimiawi) (Anonim 1999). Berdasarkan pengamatan pada tanaman jelai (*barley*), kahat P menimbulkan kerusakan mesin fotosintesis (*photosynthetic machinery*) dan rantai transpor elektron melalui serangkaian tahapan (Carstensen et al. 2018). Pada bibit padi, kahat P lebih dari 16 hari akan menurunkan hasil kuantum pada fotosistem II, laju transpor elektron, dan kelebihan energi eksitasi yang dapat menimbulkan kerusakan lebih lanjut (Xu et al. 2007). Dilihat dari perkembangan morfo-agronomisnya, kekurangan unsur P ini menyebabkan jumlah anakan berkurang, gabah menjadi hampa, dan hasil gabah menurun (Rose et al. 2013). Perubahan morfologis dan warna daun juga terjadi pada tanaman yang kekurangan unsur P (Sun 2018).

Dalam mengatasi kekurangan P, tanaman mengembangkan dua mekanisme, yaitu dengan cara meningkatkan kemampuan penyerapan P dan meningkatkan efisiensi pemanfaatannya (Ozturk et al. 2005). Pada fase pembungaan, tempat penyimpanan P yang paling penting adalah pada malai. Sebanyak 20% tempat penyimpanan P lainnya adalah jaringan vegetatif lainnya, seperti daun. Sekitar 40–70% dari total penyerapan P pada padi terjadi pada siklus pematangan sehingga unsur P sangat memengaruhi pengisian biji (Julia et al. 2016).

Tanaman padi dengan rambut akar yang banyak memudahkan tanaman menyerap P dari tanah. Tanaman dengan arsitektur seperti ini akan memiliki kemampuan lebih banyak menyerap P daripada genotipe padi dengan jumlah rambut akar lebih sedikit (Vinod dan Heuer 2012). Locus *P Uptake 1* (*Pup1*) diketahui memiliki kemampuan mengubah arsitektur akar dengan jumlah akar menjadi lebih banyak dan ukurannya lebih panjang sehingga tanaman dengan gen ini lebih mampu beradaptasi pada kondisi kurang P (Heuer et al. 2009; Gamuyao et al. 2012). Locus *Pup1* ini telah dipetakan secara genetik yang lokasinya terletak pada kromosom 12 pada genom padi. Di samping itu, marka molekuler locus ini juga telah didesain (Wissuwa et al. 1998; Chin et al. 2010, 2011).

Salah satu marka molekuler yang saat ini banyak diaplikasikan pada tanaman padi adalah *Single*

*Nucleotide Polymorphism* (SNP). Marka ini jumlahnya berlimpah pada genom padi dan tersedia jauh lebih banyak dibanding dengan mikrosatelit. Marka ini mudah diotomatisasi sehingga jumlah sampel dan marka yang dapat diuji jauh lebih banyak dan waktu yang diperlukan untuk analisis *genotyping* jauh lebih cepat dibanding dengan jenis marka lainnya (Mammadov et al. 2012; Thomson et al. 2012; Chen et al. 2014; Tasma 2014). Pemanfaatan marka SNP antara lain untuk analisis latar belakang (*background*) genetik galur-galur hasil persilangan padi (Prasetyono et al. 2016). Marka *SNP chip* dengan kandungan marka SNP mencapai 50K memfasilitasi percepatan studi keragaman genetik dan pemuliaan tanaman berbasis marka (Singh et al. 2013, 2015). Dengan berkembangnya teknologi sekuensing genom dengan teknik *Next Generation Sequencing* (NGS) akhir-akhir ini, pemanfaatan marka SNP berkembang pesat dengan biaya yang semakin terjangkau (Tasma 2014). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui komposisi genetik genotipe padi yang memiliki lokus *Pup1* dan respons pertumbuhan akar dan daun pada kondisi ketersediaan P yang berbeda.

## BAHAN DAN METODE

### Materi Genetik dan Marka SNP

Bahan tanaman yang digunakan ialah varietas padi IR74, IR74-*Pup1*, dan Kasalath. IR74-*Pup1* telah terverifikasi mengandung lokus *Pup1* (Heuer et al. 2009; Chin et al. 2011). IR74-*Pup1* merupakan galur BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub> hasil persilangan IR74 dengan NIL14-4 (Chin et al. 2010), sedangkan NIL 14-4 merupakan galur hasil persilangan Kasalath dengan Nipponbare (Wissuwa et al. 2002). Dengan demikian, Kasalath merupakan sumber lokus *Pup1* dan tetua tidak langsung dari IR74-*Pup1*. Marka SNP yang digunakan adalah marka *chip* SNP 6K (McCouch et al. 2010). Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai dengan April 2013 di Laboratorium Genetika dan Molekuler, International Rice Research Institute (IRRI), Filipina.

### Isolasi DNA Genomik

Sampel daun diambil dari bibit tiga genotipe padi yang berumur 3 minggu. DNA genomik diisolasi dari sampel daun muda dengan menggunakan metode *Cetyltrimethylammonium bromide* (Pallotta et al. 2000). Larutan DNA dalam bufer TE dicek kualitasnya dengan memigrasikannya pada gel agarosa dan ditentukan kuantitasnya dengan spektrofotometer (*ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer*, NanoDrop Technologies). DNA diencerkan dengan akuades untuk memperoleh larutan dengan konsentrasi yang dipersyaratkan untuk pengujian lebih lanjut.

### Genotyping dengan Marka SNP 6K

Analisis *genotyping* marka SNP terhadap tiga genotipe padi dilakukan di laboratorium layanan di IRRI dengan menggunakan platform *Illumina 6K SNP*. *Genotyping* dilakukan dengan mengikuti protokol *genotyping* SNP kapasitas tinggi dari *Illumina* (*Illumina*, San Diego, Amerika Serikat). *Chip* marka SNP 6K yang digunakan pada penelitian ini didesain oleh tim Susan McCouch dari Cornell University (McCouch et al. 2010). Pembacaan dan skoring dilakukan dengan mesin pembaca *array* dari *Illumina* (*Illumina BeadArray Reader*).

### Uji Cekaman P

Penelitian yang dilakukan di IRRI ini didesain dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat ulangan. Komposisi larutan hidroponik dilakukan dengan mengacu pada Yoshida et al. (1976). Kondisi kahat P dibuat dengan cara mengurangi jumlah  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  yang merupakan sumber P dalam larutan. Pada kondisi kahat P, konsentrasi P dalam larutan hara adalah sekitar 0,2 ppm atau hanya 2% dari kondisi normal (10 ppm) (Prasetyono et al. 2012). Sebanyak 4 kecambah berumur 3 hari dari setiap genotipe padi digunakan sebagai unit percobaan.

Percobaan dimulai dengan persiapan perkecambahan. Benih padi dikeringkan di dalam oven 50°C selama 3 hari untuk memecah dormansi, kemudian direndam dalam akuades selama 24 jam dan selanjutnya dikecambahkan di dalam cawan petri. Benih yang berkecambah dan menunjukkan ukuran seragam kemudian dipindahkan ke dalam media tanam hidroponik berupa larutan hara Yoshida, dengan menempatkan kecambah pada gabus berlubang yang diapungkan pada bak media tanam (Prasetyono et al. 2012). Penggunaan metode hidroponik banyak dilakukan dalam penapisan (*screening*) terhadap cekaman abiotik (Shavrukov et al. 2012).

Pengambilan sampel tanaman dilakukan pada umur 7, 14, 21 hari setelah perlakuan dengan cara mengambil tanaman secara hati-hati dari media tanam untuk menghindari kerusakan. Pengukuran dilakukan secara manual pada setiap individu terhadap panjang tunas dan panjang akar utama. Panjang tunas diukur dari pangkal batang hingga pucuk daun, sedangkan panjang akar diukur dari pangkal hingga ujung akar yang terpanjang. Pengukuran terhadap karakter akar yang lain, meliputi total panjang, diameter, luas permukaan, dan volume akar, dilakukan dengan pemotretan (*scanning*) akar setiap individu tanaman dengan alat pemindai akar (*root scanner dual lens system STD4800 Scanner* dan *Epson*

*Perfection V700 Photo Scanner* yang dilengkapi dengan perangkat lunak *WinRHIZO* (Regents Instrument, Kanada). Setelah pengukuran, tanaman dipelihara kembali dalam kultur hara yang telah diperbarui. Pengukuran dan perlakuan yang sama dilakukan pada hari ke-14 dan ke-21. Setelah pengukuran pada hari ke-21, tanaman dikeringkan di dalam oven 50°C selama 5 hari, kemudian diukur bobot kering akar dan bobot kering tunasnya.

### Analisis Data

Data *genotyping* tiga genotipe padi dengan *chip* marka SNP 6K dianalisis lebih lanjut dengan melakukan skoring data dengan A jika alel berasal dari Kasalath, B jika alel berasal dari IR74, dan H jika alel berasal dari kedua genotipe. Data genotipe SNP hasil skoring tersebut kemudian dianalisis dengan program *Graphical GenoType* (GGT) versi 2.0 ([www.dpw.wau.nl/pv/pub/ggt/](http://www.dpw.wau.nl/pv/pub/ggt/)). Data hasil pengamatan pertumbuhan daun dan akar dianalisis sidik ragamnya (*Analysis of variance*/ANOVA) dengan program SAS versi 9.4 ([https://www.sas.com/en\\_us/software/sas9.html](https://www.sas.com/en_us/software/sas9.html)).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis Galur Padi dengan Marka SNP

Analisis molekuler dengan marka SNP dimaksudkan untuk mendapatkan gambaran latar belakang genetik IR74-*Pup1*. Dari sebanyak sekitar 6.000 marka SNP pada *array chip* yang digunakan, telah diperoleh sebanyak 4.750 marka (79,17%) yang dapat dibaca dan 1.521 marka SNP (32,02%) yang polimorfik antara tetua IR74 dan Kasalath. Marka SNP polimorfik tersebut lokasinya tersebar pada dua belas kromosom padi (Tabel 1). Pada penelitian sebelumnya (Prasetyono et al. 2008), persentase marka polimorfik di antara 489 marka mikrosatelit yang diuji pada varietas Situ Bagendit (*indica*) vs Kasalath (*indica* [aus]) dan Situ Bagendit (*indica*) vs NIL-C443 (*japonica*) menunjukkan persentase polimorfisme yang lebih tinggi (55,01%) pada kombinasi *indica-japonica* dibanding dengan *indica-indica* (44,58%). Pada penelitian ini, jumlah marka SNP pada setiap kromosom berkisar antara 80 marka (kromosom 10) dan 152 marka (kromosom 1) (Tabel 1). Marka mikrosatelit (*Simple Sequence Repeat*/SSR) dan SNP dianggap sebagai marka yang paling kuat dalam pemanfaatannya untuk studi genetika tanaman. Singh et al. (2013) telah membandingkan kedua marka tersebut untuk studi keragaman genetik dan struktur populasi pada varietas padi menemukan bahwa marka SNP memberikan resolusi yang lebih tinggi

untuk studi populasi, sedangkan marka SSR lebih sesuai untuk studi analisis keragaman.

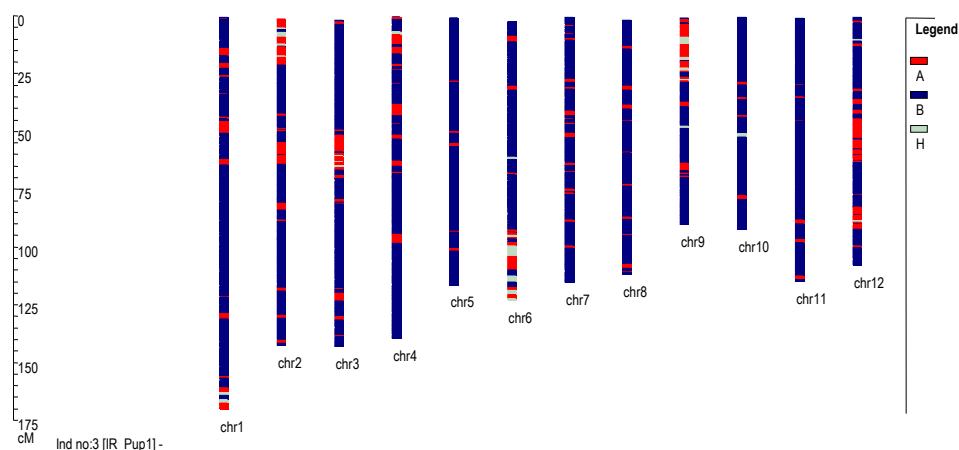
Analisis GGT antara IR74-*Pup1* dan kedua tetua menunjukkan kedekatan sebesar 84,4% dengan tetua IR74. Sebesar 13,6% segmen donor (Kasalath) yang terintrogresi ke dalam genom IR74-*Pup1* tersebar pada semua kromosom (Gambar 1). Pada kromosom 12 di mana lokus *Pup1* berada, segmen donor mencapai proporsi yang terbesar, yaitu sebesar 26,7% (Gambar 2). Segmen Kasalath yang masih terdapat pada kromosom 1 sampai dengan kromosom 11

akan memengaruhi penampilan IR74-*Pup1*, walaupun target utama adalah lokus *Pup1* pada kromosom 12. Hal ini tidak dapat dihindari karena introgresi lokus *Pup1* dari Kasalath ke dalam IR74 masih menggunakan persilangan konvensional. Segmen-segmen lain di luar lokus *Pup1* biasanya tetap akan terbawa (*linkage drag*), walaupun dalam persentase yang kecil. Fenomena *linkage drag* ini merupakan hal yang umum terjadi dalam persilangan. Sebagai contoh, kelompok peneliti dari Cina (Fan et al. 2009) menemukan adanya *linkage drag* antara gen

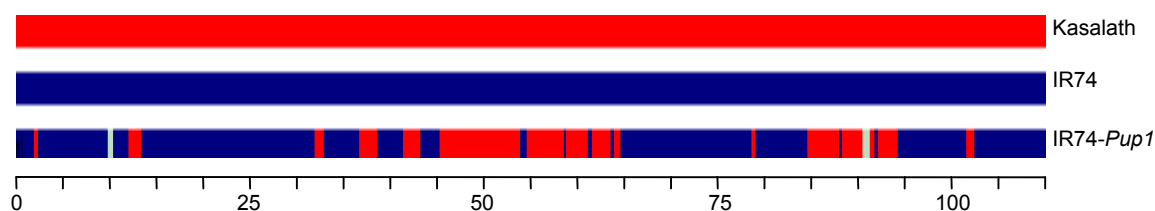
**Tabel 1.** Profil marka SNP yang dieksplorasi dari *chip* 6K yang digunakan pada penelitian ini.

| Kromosom | Jumlah marka polimorfik | Posisi SNP pada kromosom padi (cM) |          | Pola pita yang terekam pada IR74- <i>Pup1</i> |       |    |
|----------|-------------------------|------------------------------------|----------|-----------------------------------------------|-------|----|
|          |                         | Minimum                            | Maksimum | A                                             | B     | H  |
| 1        | 152                     | 0,78                               | 169,70   | 20                                            | 129   | 3  |
| 2        | 133                     | 1,13                               | 142,77   | 27                                            | 102   | 4  |
| 3        | 146                     | 1,88                               | 143,30   | 20                                            | 123   | 3  |
| 4        | 144                     | 0,24                               | 139,74   | 17                                            | 126   | 1  |
| 5        | 131                     | 1,02                               | 116,47   | 6                                             | 125   | 0  |
| 6        | 115                     | 2,71                               | 123,24   | 13                                            | 96    | 6  |
| 7        | 138                     | 0,74                               | 115,41   | 16                                            | 122   | 0  |
| 8        | 131                     | 2,11                               | 112,24   | 10                                            | 121   | 0  |
| 9        | 106                     | 1,01                               | 90,72    | 28                                            | 71    | 7  |
| 10       | 80                      | 0,59                               | 92,13    | 4                                             | 75    | 1  |
| 11       | 110                     | 1,03                               | 114,96   | 6                                             | 104   | 0  |
| 12       | 135                     | 0,48                               | 108,09   | 36                                            | 97    | 2  |
| 1.521    |                         |                                    |          | 203                                           | 1.291 | 27 |

A = pita Kasalath, B = pita IR74, H = pita heterozigot, cM = centiMorgan.



**Gambar 1.** Profil genotipe IR74-*Pup1* pada dua belas kromosom padi. A (merah) = segmen donor (Kasalath), B (biru) = segmen tetua penerima (IR74), H (abu-abu) = segmen heterozigot.



**Gambar 2.** Diagram distribusi alel SNP pada tiga genotipe padi pada kromosom 12. Merah = alel marka SNP berasal dari tetua Kasalath, biru = alel marka SNP berasal dari tetua IR74, abu-abu = alel marka SNP berasal dari kedua tetua (Kasalath dan IR74).

pengendali resistensi pada blas dan lokus yang mengendalikan kesuburan malai. Upaya mengurangi *linkage drag* biasa dilakukan dengan serangkaian seleksi pengurangan segmen donor pada populasi persilangan.

### Pertumbuhan Tunas Padi pada Kondisi Kahat P

Pengamatan terhadap beberapa karakter akar dan daun menunjukkan respons yang berbeda-beda. Respons tersebut dipengaruhi oleh faktor ketersediaan P dan/atau perbedaan genotipe karena introgresi lokus *Pup1*.

Pertumbuhan tunas secara nyata dipengaruhi oleh perlakuan cekaman unsur P (Tabel 2). Ketersediaan P secara signifikan menjaga pertumbuhan panjang tunas pada ketiga fase pengamatan. Kahat P menghambat pertumbuhan panjang tunas hingga 20%. Selain pertumbuhan panjangnya, biomassa tunas yang ditunjukkan oleh besaran bobot keringnya juga dipengaruhi secara nyata oleh ketersediaan P. Pada kondisi P tersedia, tanaman menunjukkan bobot biomassa tunas 25% lebih tinggi dibanding dengan bobot biomassa pada kondisi kahat P.

Penghambatan pertumbuhan yang disebabkan oleh kahat P ini terjadi baik pada IR74 maupun galur IR74-*Pup1* (Tabel 3). Penghambatan pertumbuhan akibat kekurangan unsur P merupakan hal yang alami karena P merupakan elemen hara yang esensial bagi tanaman. Fosfor dibutuhkan oleh tanaman untuk berbagai fungsi penting, baik sebagai bagian dari komponen organik maupun dalam fungsi metabolik. Penghambatan pertumbuhan yang terjadi melalui penurunan laju fotosintesis merupakan salah satu efek kahat P (Yong-fu et al. 2006).

Lokus *Pup1* menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan akar dan tunas. Keberadaan lokus *Pup1* pada IR74 menunjukkan efek positif terhadap pertumbuhan tunas pada dua genotipe padi yang dianalisis. Hal ini sesuai dengan penelitian yang pernah dilakukan pada generasi BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub>-*Pup1* di Indonesia (Prasetyono et al. 2012). Efek positif lokus *Pup1* terhadap peningkatan biomassa yang terdeteksi pada kondisi cekaman kahat P menunjukkan kinerja gen ini yang mampu menunjang efisiensi penyerapan P (Wissuwa dan Ae 2001).

### Pertumbuhan Akar pada Kondisi Kahat P

Pertumbuhan panjang akar lebih dipengaruhi oleh perbedaan genotipe, sedangkan perbedaan ketersediaan P tidak memberikan pengaruh yang cukup nyata. Analisis statistik terhadap pertumbuhan akar menunjukkan bahwa lokus *Pup1* secara nyata meningkatkan panjang akar utama. Akan tetapi,

**Tabel 2.** Pengaruh kahat P terhadap pertumbuhan akar utama dan tunas padi.

| Variabel                | Cukup P <sup>a</sup> | Kahat P <sup>a</sup> | Persentase efek kahat P <sup>b</sup> |
|-------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| Panjang tunas (mm)      |                      |                      |                                      |
| Hari ke-7               | 81,710               | 66,625               | -0,185**                             |
| Hari ke-14              | 189,575              | 152,690              | -0,195**                             |
| Hari ke-21              | 296,040              | 236,030              | -0,203**                             |
| Bobot kering tunas (mg) | 439,035              | 288,210              | -0,344**                             |
| Panjang akar utama (mm) |                      |                      |                                      |
| Hari ke-7               | 69,03                | 69,260               | -0,003 <sup>tn</sup>                 |
| Hari ke-14              | 101,56               | 97,055               | 0,044 <sup>tn</sup>                  |
| Hari ke-21              | 125,97               | 123,055              | 0,023 <sup>tn</sup>                  |
| Bobot kering akar (mg)  | 137,24               | 121,595              | 0,114 <sup>tn</sup>                  |

<sup>a</sup>Cukup P dan kahat P adalah penjumlahan nilai rerata IR74 dan IR74-*Pup1* untuk setiap variabel. <sup>b</sup>(kahat P–cukup P)/cukup P × 100%. \*\*Berbeda nyata pada taraf 1%. <sup>tn</sup>Tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

**Tabel 3.** Pengaruh lokus *Pup1* terhadap pertumbuhan akar utama dan daun padi pada kondisi kahat P.

| Variabel yang diamati   | IR74    | IR74- <i>Pup1</i> | Pengaruh lokus <i>Pup1</i> <sup>a</sup> |
|-------------------------|---------|-------------------|-----------------------------------------|
| Panjang tunas (mm)      |         |                   |                                         |
| Hari ke-7               | 69,845  | 78,490            | +0,124*                                 |
| Hari ke-14              | 169,285 | 172,980           | +0,022 <sup>tn</sup>                    |
| Hari ke-21              | 263,905 | 268,165           | +0,016 <sup>tn</sup>                    |
| Bobot kering tunas (mg) | 371,585 | 355,660           | -0,043 <sup>tn</sup>                    |
| Panjang akar utama (mm) |         |                   |                                         |
| Hari ke-7               | 57,310  | 80,980            | +0,413**                                |
| Hari ke-14              | 85,875  | 112,740           | +0,313**                                |
| Hari ke-21              | 116,160 | 132,865           | +0,144**                                |
| Bobot kering akar (mg)  | 121,200 | 137,635           | +0,136 <sup>tn</sup>                    |

<sup>a</sup>Nilai IR74-*Pup1* dikurangi IR74. \*Berbeda nyata pada taraf 5%. \*\*Berbeda nyata pada taraf 1%. <sup>tn</sup>Tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

biomassa akar yang ditunjukkan oleh bobot keringnya tidak terpengaruh oleh lokus *Pup1* (Tabel 3).

Pengamatan akar selama 3 minggu berturut-turut menunjukkan bahwa pertumbuhan panjang akar utama secara nyata dipengaruhi oleh introgresi lokus *Pup1*. Genotipe IR74-*Pup1* menunjukkan pertumbuhan panjang akar yang lebih baik, baik pada kondisi kecukupan unsur P maupun kahat P. Akan tetapi, biomassa akar yang direpresentasikan dengan bobot keringnya tidak secara nyata dipengaruhi baik oleh ketersediaan P maupun oleh introgresi *Pup1*.

Terdapat perbedaan hasil pengukuran yang dilakukan secara manual (diukur langsung menggunakan penggaris) dengan pemindai akar dan *analyser*. Pengamatan yang dilakukan secara manual menunjukkan bahwa panjang akar utama dipengaruhi oleh lokus *Pup1*, tetapi tidak dipengaruhi oleh ketersediaan P dalam media tanam. Sebaliknya, pengamatan menggunakan mesin pengukur menunjukkan bahwa pertumbuhan beberapa komponen pertumbuhan akar lebih dipengaruhi oleh ketersediaan P dibanding dengan introgresi *Pup1*. Kelemahan penggunaan

peubah panjang akar sebagai peubah pertumbuhan dengan cara pengamatan manual sudah banyak disoroti. Pengamatan secara manual biasanya hanya mengacu pada akar terpanjang yang biasanya merupakan akar utama. Pada padi yang memiliki tipe akar serabut, pengukuran panjang akar utama kurang mewakili. Individu tanaman yang memiliki akar utama yang panjang mungkin saja memiliki percabangan, volume, dan ukuran diameter akar yang kecil. Sebaliknya, individu yang memiliki panjang akar utama pendek bisa jadi memiliki percabangan dan rambut akar yang lebih banyak dan ukuran yang lebih besar. Famoso et al. (2010) mengamati pertumbuhan akar pada 225 aksesori padi dan mendapatkan bahwa korelasi antara panjang akar relatif (PAR) yang didasarkan pada panjang akar utama dan PAR yang didasarkan pada perhitungan total panjang akar hanya menunjukkan angka sebesar 0,172. Hal ini berarti bahwa penggunaan PAR yang didasarkan pada panjang akar utama bukan peubah yang bagus untuk menggambarkan sistem perakaran secara total.

Pengamatan bobot kering akar menunjukkan pertumbuhan yang tidak dipengaruhi oleh faktor ketersediaan P maupun introgresi *Pup1*. Sebaliknya, pertumbuhan daun dipengaruhi dengan sangat nyata oleh ketersediaan P. Peubah bobot kering akar biasa digunakan sebagai representasi biomassa akar. Akar merupakan organ utama yang berkaitan dengan penyerapan hara. Dalam kaitannya dengan ketersediaan P, disebutkan bahwa perubahan kecil dalam peubah pertumbuhan akar memiliki pengaruh besar terhadap serapan P (Wissuwa 2003). Pada penelitian ini biomassa akar tidak dipengaruhi oleh ketersediaan P. Hal ini dimungkinkan karena perlakuan defisiensi selama 21 hari belum cukup untuk menampakkan efek yang nyata. Selain itu, fungsi akar adalah sebagai penyerap hara tanah untuk kemudian ditransfer ke bagian daun tempat proses sintesis protein dilakukan. Terdapat serangkaian proses metabolisme yang panjang akibat perlakuan untuk dapat menampakkan gejala yang mudah diamati. Studi sebelumnya (Xu et al. 2007), yang melaporkan pengamatan terhadap fotosistem, transpor elektron, dan beberapa reaksi yang terkait, mendeteksi gejala gangguan fotosintesis pada padi dengan gejala kahat P setelah 16 hari perlakuan. Pada penelitian ini, pengaruh kekahatan lebih nyata gejalanya pada biomassa organ daun hingga minggu ke-3. Sementara itu, pengaruh lokus *Pup1* terlihat nyata hanya pada minggu pertama, IR74-*Pup1* menunjukkan panjang daun 20% lebih tinggi dibandingkan dengan IR74 (Tabel 3). Hasil penelitian ini mirip dengan studi sebelumnya (Yong-fu et al. 2006) yang menemukan bahwa dua genotipe padi di Cina ter-

hambat pertumbuhan akar dan tunasnya oleh kahat P, akan tetapi genotipe yang diketahui lebih toleran menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik.

### Variasi Komponen Pertumbuhan Akar

Pengamatan pertumbuhan akar secara lebih rinci menunjukkan adanya pengaruh faktor ketersediaan P dan introgresi lokus *Pup1* terhadap panjang total, luas permukaan, diameter, dan volume akar. Kahat P menghambat pertumbuhan akar, adapun introgresi *Pup1* tidak cukup signifikan pengaruhnya terhadap komponen pertumbuhan akar tersebut.

Kahat P menghambat pertumbuhan total panjang, luas permukaan, diameter, dan volume akar pada bibit umur 7, 14, 21 hari setelah perlakuan. Panjang akar total secara nyata terhambat oleh kahat P, terutama pada minggu pertama perlakuan. Penghambatan pertumbuhan luas permukaan dan volume akar terutama terjadi pada minggu ke-2. Efek kahat P terhadap diameter akar terlihat nyata pada 2 minggu pertama (Tabel 4).

Introgresi lokus *Pup1* memberikan pengaruh yang bervariasi terhadap setiap stadia pertumbuhan panjang, luas permukaan, diameter, dan volume akar. Pengamatan total panjang akar menunjukkan pengaruh *Pup1* yang tidak nyata dan tidak konsisten. Efek *Pup1* terhadap pertumbuhan luas permukaan akar terlihat nyata hanya pada minggu ke-2, demikian juga efek *Pup1* terhadap pertumbuhan diameter dan volume akar. Pada minggu ke-2, *Pup1* secara nyata memberikan efek kenaikan volume akar (Tabel 5).

Pengamatan yang dilakukan dengan pemindai akar memberikan gambaran yang lebih rinci terhadap beberapa komponen pertumbuhan akar. Berdasarkan pendekatan ini, diketahui bahwa pengaruh yang disebabkan oleh ketersediaan P lebih signifikan dibandingkan dengan introgresi *Pup1*. Kahat P menurunkan total panjang, luas permukaan, diameter, dan volume akar. Walaupun secara keseluruhan pertumbuhan akar terhambat oleh kahat P, gejala penghambatan lebih parah terjadi pada IR74. Pertumbuhan akar IR74-*Pup1* selalu lebih baik dibandingkan dengan IR74, baik dalam keadaan kecukupan P maupun kahat P.

Mekanisme pembentukan akar yang lebih responsif pada lokus *Pup1*, terutama pada kondisi kahat P ini, akibat adanya gen *Phosphorus-starvation tolerance 1 (PSTOL1)* yang berada di dalam lokus *Pup1* (Gamuyao et al. 2012). Gen yang bersifat spesifik ini terdapat pada Kasalath dan tidak pada Nipponbare. Over-ekspresi gen ini pada beberapa varietas padi lainnya diketahui meningkatkan hasil

**Tabel 4.** Pengaruh cekaman P terhadap empat peubah pertumbuhan akar pada galur padi IR74-*Pup1*.

| Variabel                               | Dengan P  | Tanpa P   | Pengaruh P<br>(P value) |
|----------------------------------------|-----------|-----------|-------------------------|
| Total panjang akar (cm)                |           |           |                         |
| Hari ke-7                              | 62,39838  | 75,89203  | 0,0002**                |
| Hari ke-14                             | 183,26030 | 168,10890 | 0,0660 <sup>tn</sup>    |
| Hari ke-21                             | 299,13230 | 272,64250 | 0,0552 <sup>tn</sup>    |
| Luas permukaan akar (cm <sup>2</sup> ) |           |           |                         |
| Hari ke-7                              | 4,736904  | 4,964206  | 0,4541 <sup>tn</sup>    |
| Hari ke-14                             | 14,041700 | 11,372700 | <0,0001**               |
| Hari ke-21                             | 23,352370 | 20,689440 | 0,0152*                 |
| Diameter akar (mm)                     |           |           |                         |
| Hari ke-7                              | 0,244263  | 0,209083  | <0,0001**               |
| Hari ke-14                             | 0,243369  | 0,215577  | <0,0001**               |
| Hari ke-21                             | 0,233578  | 0,242284  | 0,5501 <sup>tn</sup>    |
| Volume akar (cm <sup>3</sup> )         |           |           |                         |
| Hari ke-7                              | 0,029094  | 0,026094  | 0,0486*                 |
| Hari ke-14                             | 0,086500  | 0,061469  | <0,0001**               |
| Hari ke-21                             | 0,145157  | 0,125636  | 0,0148*                 |

\*Berbeda nyata pada taraf 5%. \*\*Berbeda nyata pada taraf 1%.

<sup>tn</sup>Tidak berbeda nyata pada taraf 5%.**Tabel 5.** Pengaruh lokus *Pup1* terhadap empat peubah pertumbuhan akar pada padi IR74.

| Variabel                               | IR74     | IR74- <i>Pup1</i> | Pengaruh <i>Pup1</i><br>(P value) |
|----------------------------------------|----------|-------------------|-----------------------------------|
| Total panjang akar (cm)                |          |                   |                                   |
| Hari ke-7                              | 67,43129 | 70,85912          | 0,3402 <sup>tn</sup>              |
| Hari ke-14                             | 171,6022 | 179,767           | 0,1702 <sup>tn</sup>              |
| Hari ke-21                             | 269,9625 | 301,8122          | 0,0263*                           |
| Luas permukaan akar (cm <sup>2</sup> ) |          |                   |                                   |
| Hari ke-7                              | 4,533694 | 5,167415          | 0,0179*                           |
| Hari ke-14                             | 11,91676 | 13,49764          | 0,0053**                          |
| Hari ke-21                             | 20,78728 | 23,25453          | 0,0232*                           |
| Diameter akar (mm)                     |          |                   |                                   |
| Hari ke-7                              | 0,219369 | 0,233976          | 0,0391*                           |
| Hari ke-14                             | 0,220197 | 0,238749          | 0,0001**                          |
| Hari ke-21                             | 0,230944 | 0,244919          | 0,3431 <sup>tn</sup>              |
| Volume akar (cm <sup>3</sup> )         |          |                   |                                   |
| Hari ke-7                              | 0,024907 | 0,030282          | 0,0041**                          |
| Hari ke-14                             | 0,066375 | 0,081594          | 0,0006**                          |
| Hari ke-21                             | 0,127594 | 0,143198          | 0,0429*                           |

\*Berbeda nyata pada taraf 5%. \*\*Berbeda nyata pada taraf 1%.

<sup>tn</sup>Tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

gabah pada tanah dengan kondisi kahat P. Gen ini memang tidak terlibat langsung dalam pembentukan akar, namun mampu menstimulasi proses-proses kimiawi sehingga terbentuk akar (volume) yang lebih banyak pada kondisi kahat P. Gen ini juga dapat ditemukan pada padi-padi lain (Pariasca et al. 2014).

### KESIMPULAN

Kahat P menghambat pertumbuhan akar dan tunas IR74 dan IR74-*Pup1*. Introgresi lokus *Pup1* yang berasal dari Kasalath pada IR74 meningkatkan kemampuan tanaman dalam mengurangi dampak

penghambatan pertumbuhan yang diakibatkan oleh kahat P. IR74-*Pup1* yang mengandung 13,6% segmen Kasalath menunjukkan pertumbuhan akar dan daun yang lebih baik dibanding dengan IR74, baik pada kondisi cukup P maupun kahat P.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Sigrid Heuer sebagai penanggung jawab kegiatan dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini. Penelitian ini terlaksana dengan pembiayaan dari proyek kerja sama internasional *Generation Challenge Programme* (GCP) dengan judul *Developing Rice with Dual Tolerance of Phosphorus Deficiency and Aluminum Toxicity: Marker-Assisted Pyramiding of *Pup1* with Tolerance QTLs*, dengan nomor grant G7010.03.04 tahun 2013.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (1999) Phosphorus deficiency symptoms in some crops. *Better Crops*, 83 (1), 20–23.
- Carstensen, A., Herdean, A., Schmidt, S.B., Sharma, A., Spetea, C., Pribil, M. & Husted, S. (2018) The impacts of phosphorus deficiency on the photosynthetic electron transport chain. *Plant Physiology*, 177, 271–284.
- Chen, H., Xie, W., He, H., Yu, H., Chen, W., Li, J., Yu, R., Yao, Y., Zhang, W., He, Y., Tang, X., Zhou, F., Deng, X.W. & Zhang, Q. (2014) A high-density SNP genotyping array for rice biology and molecular breeding. *Molecular Plant*, 7 (3), 541–553.
- Chin, H.J., Lu, X., Haefele, S.M., Gamuyao, R., Ismail, A.M., Wissuwa, M. & Heuer, S. (2010) Development and application of gene-based markers for the major rice QTL. *Phosphorus uptake 1. Theoretical and Applied Genetics*, 120 (6), 1073–1086.
- Chin, J.H., Gamuyao, R., Dalid, C., Bustamam, M., Prasetyono, J., Moeljopawiro, S., Wissuwa, M. & Heuer, S. (2011) Developing rice with high yield under phosphorus deficiency: *Pup1*. Sequence to Application 1. *Plant Physiology*, 156, 1202–1216.
- Famoso, A.N., Clark, R.T., Shaff, J.E., Craft, E., McCouch, S.R. & Kochian, L.V. (2010) Development of a novel aluminum tolerance phenotyping platform used for comparisons of cereal aluminum tolerance and investigations into rice. *Plant Physiology*, 153, 1678–1691.
- Fan, Y., Chen, J. & Wu, J. (2009) Avoidance of linkage drag between blast resistance gene and the QTL conditioning spikelet fertility based on genotype selection against heading date in rice. *Rice Science*, 16 (1), 21–26.
- Gamuyao, R., Chin, J.H., Tanaka, J.P., Pesaresi, P., Catausan, S., Dalid, C., Loedin, I.S., Mendoza, E.M.T.,

- Wissuwa, M. & Heuer, S. (2012) The protein kinase OsPSTOL1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. *Nature*, 488, 535–539.
- Heuer, S., Lu, X., Chin, J.H., Tanaka, J.P., Kanamori, H., Matsumoto, T., De Leon, T., Ulat, V.J., Ismail, A.M., Yano, M. & Wissuwa, M. (2009) Comparative sequence analyses of the major quantitative trait locus *Phosphorus uptake 1 (Pup1)* reveal a complex genetic structure. *Plant Biotechnology*, 7, 456–471.
- Julia, C., Wissuwa, M., Kretschmar, T., Jeong, K. & Rose, T. (2016) Phosphorus uptake, partitioning, and redistribution during grain filling in rice. *Annals of Botany*, 118, 1151–1162.
- Mammadov, J., Aggarwal, R., Buyyarapu, R. & Kumpatla, S. (2012) SNP markers and their impact on plant breeding. *International Journal of Plant Genomics*, 728398. doi: 10.1155/2012/728398.
- McCouch, S.R., Zhao, K., Wright, M., Tung, C.W., Ebana, K., Thomson, M., Reynolds, A., Wang, D., DeClerck, G., Ali, Md.L., McClung, A., Eizenga, G. & Bustamante, C. (2010) Development of genome-wide SNP assays for rice. *Breeding Science*, 60, 524–535.
- Ozturk, L., Eker, S., Torun, B. & Cakmak, I. (2005) Variation in phosphorus efficiency among 73 bread and durum wheat genotypes grown in a phosphorus-deficient calcareous soil. *Plant and Soil*, 269, 69–80.
- Pallotta, M., Langridge, P. & Barker, S.J. (2000) RFLP mapping of manganese efficiency in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 101 (7), 1100–1108.
- Pariasca, J., Chin, J.H., Dramé, K.N., Dalid, C., Heuer, S. & Wissuwa, M. (2014) A novel allele of the P-starvation tolerance gene *OsPSTOL1* from African rice (*Oryza glaberrima* Steud.) and its distribution in the genus *Oryza*. *Theoretical and Applied Genetics*, 127, 1387–1398.
- Prasetyono, J., Aswidinnoor, H., Moeljopawiro, S., Sopandie, D. & Bustamam, M. (2008) Identifikasi marka polimorfik untuk pemuliaan padi toleran defisiensi fosfor. *Jurnal AgroBiogen*, 4 (2), 51–58.
- Prasetyono, J., Suhartini, T., Soemantri, I.H., Tasliah, Moeljopawiro, S., Aswidinnoor, H., Sopandie, D. & Bustaman, M. (2012) Evaluasi beberapa galur-*Pup1* tanaman padi (*Oryza sativa* L.) pada larutan hara dan lapangan. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 40 (2), 83–90.
- Prasetyono, J., Tasliah, Ma'sumah, Hidayatun, N., Suhartini, T. & Soemantri, I.H. (2016) Analisis molekuler dan uji daya hasil galur-galur BC<sub>2</sub>F<sub>8</sub> padi *Pup1*. *Jurnal AgroBiogen*, 12 (1), 1–10.
- Rose, T.J., Impa, S.M., Rose, M.T., Pariasca-Tanaka, J., Mori, A., Heuer, S., Johnson-Beebout, S.E. & Wissuwa, M. (2013) Enhancing phosphorus and zinc acquisition efficiency in rice: A critical review. *Annual Botany*, 112, 331–345.
- Shavrukov, Y., Genc, Y. & Hayes, J. (2012) The use of hydroponics in abiotic stress tolerance research. In: Asao, T. (ed.) *Hydroponics: A standard methodology for plant biological researches*. [e-book] InTech, Rijeka, Croatia, pp. 39–66. Available from: <https://www.intechopen.com/books/hydroponics-a-standard-methodology-for-plant-biological-researches/the-use-of-hydroponics-in-abiotic-stress-tolerance-research> [Accessed 12 Januari 2013].
- Singh, N., Jayaswal, P.K., Panda, K., Mandal, P., Kumar, V., Singh, B., Mishra, S., Singh, Y., Singh, R., Rai, V., Gupta, A., Sharma, T.R. & Singh, N.K. (2015) Single-copy gene based 50K SNP chip for genetic studies and molecular breeding in rice. *Scientific Reports*, 5, 11600. doi: 10.1371/journal.pone.0084136.
- Sun, Y. (2018) Identification of nitrogen, phosphorus, and potassium deficiencies based on temporal dynamics of leaf morphology and color. *Sustainability*, 10 (3), 762. doi: 10.3390/su10030762.
- Tasma, I.M. (2014) Single nucleotide polymorphism (SNP) sebagai marka DNA masa depan. *WartaBiogen*, 10 (3), 7–10.
- Thomson, M.J., McNally, K.L. & McClung, A. (2012) High-throughput single nucleotide polymorphism genotyping for breeding applications in rice using the BeadXpress platform. *Molecular Breeding*, 29 (4), 875–886.
- Vinod, K.K. & Heuer, S. (2012) Approaches towards nitrogen- and phosphorus-efficient rice. *AoB Plants*, 1–18. doi: 10.1093/aobpla/pls028.
- Wissuwa, M., Wegner, J., Ae, N. & Yano, M. (2002) Substitution mapping of *Pup1*: A major QTL increasing phosphorus uptake of rice from a phosphorus-deficient soil. *Theoretical and Applied Genetics*, 105, 890–897.
- Wissuwa, M. (2003) How do plants achieve tolerance to phosphorus deficiency? Small causes with big effects. *Plant Physiology*, 133, 1947–1958.
- Wissuwa, M. & Ae, N. (2001) Further characterization of two QTLs that increase phosphorus uptake of rice (*Oryza sativa* L.) under phosphorus deficiency. *Plant and Soil*, 237, 275–286.
- Wissuwa, M., Yano, M. & Ae, N. (1998) Mapping of QTLs for phosphorus-deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 97, 777–783.
- Xu, H.X., Weng, X.Y. & Yang, Y. (2007) Effect of phosphorus deficiency on the photosynthetic characteristics of rice plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 54 (6), 741–748.
- Yong-fu, L., An-Cheng, L., Hassan, M.J. & Xing-Hua, W. (2006) Effect of phosphorus deficiency on leaf photosynthesis and carbon partitioning in two rice genotypes with contrasting low phosphorus susceptibility. *Rice Science*, 13 (4), 283–290.
- Yoshida, S., Forno, D.A., Cock, J.H. & Gomez, K.A. (1976) *Laboratory manual for physiological studies of rice*. Los Baños, Philippines, International Rice Research Institute.