

Bioasai Lanjutan Tanaman Padi Transgenik Putatif *CryIA(b)* Generasi T1, T2, dan T3

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

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Keberhasilan menghasilkan tanaman transgenik adalah dengan diperolehnya ekspresi gen yang disisipkan dan munculnya fenotipe baru yang diinginkan. Salah satu metode yang dapat dilakukan adalah dengan pengujian ketahanan tanaman secara langsung terhadap hama yang dituju (*bioassay*). Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan tanaman padi putatif transgenik generasi T1, T2, dan T3 yang tahan hama penggerek batang. Sebagai bahan uji digunakan T1-T-5B, T1-T-5H, T2-B5-T1-C₇, T2-B6-T1-C₇, T2-B24-T1-C₇, T3-A1-T-4B, T3-A2-T-4B, and T3-A3-T-4B yang merupakan tanaman putatif transgenik Taipei-309. Dari bioasai tanaman saat pertumbuhan vegetatif melalui pengamatan terhadap gejala sundep ditemukan 13 tanaman dengan kategori sangat tahan, 5 kategori tahan, 9 tanaman agak tahan, 12 tanaman agak peka, 5 tanaman peka, dan 2 tanaman sangat peka. Dari bioasai tanaman saat pertumbuhan generatif melalui pengamatan terhadap gejala beluk ditemukan 19 tanaman yang termasuk kategori sangat tahan, 2 tanaman tahan, 5 tanaman agak tahan, 10 tanaman agak peka, 5 tanaman peka, dan 5 tanaman sangat peka. Tanaman yang mempunyai ketahanan terhadap hama penggerek padi kuning baik pada saat vegetatif maupun generatif yaitu 1 nomor tanaman T1 yang berasal dari kalus T-5B dan 2 nomor dari T-5H, 10 tanaman T2 asal kalus T1-C₇, serta 4 tanaman T3 asal kalus T-4B.

Kata kunci: Tanaman transgenik, bioasai, penggerek batang padi

ABSTRACT

The success in transgenic plants production occurs when plants express the inserted gene and interest new phenotype appears. The objective of the research is to obtain putative transgenic rice (T1, T2, and T3 generation) resistant to stem borer. The material used in this research were T1-T-5B, T1-T-5H, T2-B5-T1-C₇, T2-B6-T1-C₇, T2-B24-T1-C₇, T3-A1-T-4B, T3-A2-T-4B, and T3-A3-T-4B selected from generation of Taipei-309 putative transgenic rice. At vegetative stage, observation on sundep (*dead-hearts*) indicated that 13 plants were highly resistant, 5 plants were resistant, 9 plants were moderately resistant, 12 plants were moderately susceptible, 5 plants were susceptible and 2 plants were highly susceptible. At generative stage, observation on beluk (*white-heads*) indicated that 19 plants were highly resistant, 2 plants were resistant, 5 plants were moderately resistant, 10 plants were moderately susceptible, 5 plants were susceptible and 5 plants were highly susceptible. Plants resistant to yellow stemborer at vegetative as well as generative stage were 1 plant from T1-T-5B, 2 plants from T1-T-5H, 10 plants from T2-T1-C₇, and 4 plants from T3-T-4B.

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 mencapai puncaknya pada musim hujan tahun 1989/1990, yaitu 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 (Syam dan Hermanto, 1995). Hama penggerek batang, terutama jenis penggerek padi putih diketahui dapat berada terus-menerus di pertanaman padi tanpa diapause (*short cycle*). Kemampuannya untuk berkembang biak tanpa diapause disebabkan oleh tersedianya makanan secara terus-menerus akibat tertib tanam yang tidak teratur, tersedianya singgang tanaman, dan meningkatnya intensitas tanam. 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 (Syam dan Hermanto, 1995).

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 ini (Syam dan Hermanto, 1995). Sebelumnya, para peneliti di India dan IRRI menduga beberapa jenis padi liar mempunyai ketahanan terhadap penggerek padi kuning. Namun, hasil penelitian di Indonesia sendiri menunjukkan bahwa sifat ketahanan tersebut ternyata lebih bersifat fisik, karena ukuran batangnya yang kecil menjadikannya 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 diperolehnya ekspresi gen introduksi tersebut dan munculnya fenotipe baru yang diinginkan (Koziel *et al.*, 1996). Faktor yang mempengaruhi tinggi-rendah atau tidak adanya ekspresi gen introduksi antara lain ialah tempat gen introduksi tersebut ter-integrasi di dalam genom tanaman (*positional effect*)

serta mekanisme pembungkaman gen (*gene silencing*). Oleh karena itu, walaupun pada penelitian Santoso *et al.* (2001) data *Southern blot* dan PCR telah menunjukkan hasil positif, 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*) perlu dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan tanaman padi putatif transgenik generasi T1, T2, dan T3 melalui bioasai terhadap hama penggerek batang padi kuning.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Fasilitas Uji Terbatas (FUT), Balai Penelitian Bio-teknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor pada April-Desember 2002. Bahan penelitian, masing-masing 10 tanaman, terdiri atas generasi tanaman putatif transgenik asal Taipei-309, yaitu generasi T1: T1-T-5B dan T1-T-5H, generasi T2: T2-B5-T1-C₇, T2-B6-T1-C₇, dan T2-B24-T1-C₇, serta generasi T3: T3-A1-T-4B, T3-A2-T-4B, dan T3-A3-T-4B. Sebagai kontrol digunakan *wild type* (non transgenik) Taipei-309. Pada bioasai digunakan ulat stadia larva instar 1 hama penggerek batang padi kuning (*S. incertulas* Wlk) (IRRI, 1996). Karena hama penggerek batang padi belum dapat diperbanyak di laboratorium, maka serangga harus selalu dikoleksi dari hasil survei di lapang. Telur-telur serangga dipelihara pada pertanaman populasi IR64 sampai menghasilkan larva instar 1 (Komunikasi pribadi dengan Dr. Bahagiawati).

Populasi tanaman transgenik generasi T1, T2, dan T3 dari Taipei-309 diuji secara individual untuk ketahanan terhadap hama penggerek batang padi kuning. Sebagai kontrol peka digunakan tanaman Taipei-309 non transgenik. Inokulasi dilakukan pada tanaman transgenik fase vegetatif, yaitu umur 6 minggu setelah tanam (MST), sedangkan fase generatif, yaitu pada 9 MST. 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.

Pengamatan terhadap serangan hama saat vegetatif, yaitu terhadap gejala sundep, sedangkan pengamatan saat generatif, yaitu terhadap gejala beluk. intensitas serangan hama diamati pada saat 2 minggu setelah inokulasi (MSI) dengan menggunakan rumus menurut Standard Evaluation System (IRRI, 1996).

$$\text{Intensitas serangan (\%)} = \frac{\text{Jumlah anakan terserang}}{\text{Jumlah anakan total}} \times 100\%$$

Pengamatan terhadap jumlah dan ukuran larva, dilakukan dengan jalan membelah batang padi tersebut. Selanjutnya untuk skoring ketahanan

terhadap hama dihitung berdasarkan persentase intensitas serangan, yaitu (A) tingkat ketahanan terhadap serangan hama penggerek pada tahap vegetatif (sundep) kategori sangat tahan = 0%, tahan = 1-20%, agak tahan = 21-40%, agak peka = 41-60%, peka = 61-80%, dan sangat peka = 81-100%. (B) tingkat ketahanan terhadap serangan hama penggerek pada tahap generatif (beluk) kategori sangat tahan = 0%, tahan = 1-10%, agak tahan = 11-25%, agak peka = 26-40%, peka = 41-60%, dan sangat peka = 61-100%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini nomor tanaman yang diuji merupakan nomor-nomor yang sebelumnya telah diuji secara molekuler (Santoso *et al.*, 2001; Hanarida *et al.*, 2000; Dewi *et al.*, 2001). Hasil uji bioasai ketahanan tanaman padi putatif transgenik T1, T2, dan T3 terhadap serangan saat fase vegetatif (gejala sundep) dan fase generatif (gejala beluk) disajikan pada Tabel 1. Tampak bahwa tanaman putatif transgenik yang diuji tersebut mengekspresikan tingkat ketahanan yang berbeda-beda pada setiap nomor, baik untuk ketahanan pada fase vegetatif (pengamatan gejala sundep) maupun pada fase generatif (pengamatan gejala beluk). Ditemukan ketahanan mulai kategori tanaman sangat peka, yaitu intensitas serangan 81-100% pada fase vegetatif, atau 61-100%, pada fase generatif, sampai kategori sangat tahan, yaitu intensitas serangan 0%.

Pada bioasai untuk ketahanan terhadap serangan pada fase vegetatif (Tabel 1), terdapat 12,12% (tanaman T2-B24-T1-C₇) sampai 58,80% (tanaman T2-B6-T1-C₇) anakan mengalami gejala sundep, sementara pada kontrol sebesar 80%. Diperoleh total 13 tanaman yang termasuk kategori sangat tahan, 5 tanaman dengan kategori tahan, dan 9 tanaman dengan kategori agak tahan. Kategori ketahanan terhadap serangan saat fase vegetatif untuk masing-masing tanaman disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Aktivitas insektisidal tanaman padi putatif transgenik Taipei-309 Generasi T1, T2, dan T3 terhadap penggerek batang padi kuning pada fase vegetatif (gejala sundep) dan generatif (gejala beluk)

Asal tanaman	Jumlah tanaman total ¹⁾	Jumlah anakan	Jumlah anakan dengan gejala sundep (%)	Jumlah anakan dengan gejala beluk (%)	Jumlah ulat yang diinfestasi ²⁾	Jumlah ulat yang ditemukan (%) ³⁾	Panjang ulat (mm)
T1-T-5B	5	26	5 (19,23)	9 (34,62)	130	11 (8,46)	4,36
T1-T-5H	5	27	10 (37,03)	2 (7,41)	135	3 (2,22)	4,33
T2-B5-T1C7	6	33	6 (18,18)	5 (15,15)	165	8 (4,85)	4,69
T2-B6-T1C7	2	17	10 (58,8)	0	85	1 (1,18)	1,0
T2-B24-T1C7	7	33	4 (12,12)	1 (3,03)	165	0	0
T3-A1-T-4B	6	22	3 (13,64)	6 (27,27)	110	34 (30,91)	5,29
T3-A2-T-4B	8	59	28 (47,46)	10 (16,95)	295	45 (15,25)	5,67
T3-A3-T-4B	7	31	8 (25,81)	11 (35,48)	155	24 (15,48)	4,67
Kontrol	5	10	8 (80,0)	7 (70,0)	50	20 (40,0)	5,05
Total	51	258	82 (31,78)	51 (19,77)	1290	146 (11,32)	-

¹⁾Jumlah tanaman yang tumbuh dari 10 tanaman awal, ²⁾infestasi 5 larva/anakan, ³⁾ulat umumnya mati

Tabel 2. Tingkat ketahanan tanaman padi putatif transgenik Taipei-309 generasi T1, T2, dan T3 terhadap penggerek batang padi kuning pada fase vegetatif (gejala sundep) dan generatif (gejala beluk)

Asal tanaman	Jumlah tanaman dengan kategori ketahanan terhadap serangan hama penggerek batang padi kuning											
	Saat fase vegetatif (gejala sundep)						Saat fase generatif (gejala beluk)					
	ST	T	AT	AP	P	SP	ST	T	AT	AP	P	SP
T1-T-5B	1	2	1	-	-	1	1	-	-	2	1	1
T1-T-5H	-	1	1	3	-	-	4	-	1	-	-	-
T2-B5-T1C7	2	1	-	3	-	-	2	1	1	1	1	-
T2-B6-T1C7	-	-	-	1	1	-	2	-	-	-	-	-
T2-B24-T1C7	5	-	2	-	-	-	6	-	1	-	-	-
T3-A1-T-4B	3	1	1	1	-	-	2	-	-	2	1	1
T3-A2-T-4B	-	-	2	2	4	-	1	-	2	4	-	1
T3-A3-T-4B	2	-	2	2	-	1	1	1	-	1	2	2
Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	13	5	9	12	5	2	19	2	5	10	5	5

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

Bioasai terhadap serangan hama penggerek saat pertumbuhan generatif di-lakukan pada tanaman yang akan memasuki masa bunting (*booting stage*). Inten-sitas serangan hama penggerek batang yang mengakibatkan beluk berkisar antara 0-35,48% (Tabel 1). Intensitas serangan terendah ditemukan pada anakan tanam-an-tanaman T2-B6-T1-C7, yaitu sebesar 0% dan T2-B24-T1-C7 sebesar 3,03%, se-dangkan tertinggi dapat diamati pada anakan tanaman-tanaman T3-A3-T-4B, yaitu sebesar 35,48% (Tabel 1). Diperoleh total 19 tanaman yang termasuk kategori sangat tahan, 2 tanaman dengan kategori tahan, dan 5 tanaman dengan kategori agak tahan. Perbedaan ketahanan tanaman terhadap serangan hama penggerek batang padi kuning saat fase generatif dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada umumnya tanaman yang termasuk kategori sangat tahan sama sekali tidak menunjukkan gejala serangan baik pada pengamatan saat vegetatif maupun generatif. Sementara itu pada bioasai saat vegetatif maupun generatif, berturut-turut untuk pengamatan gejala sundep maupun beluk, juga tidak diperoleh tanam-an kontrol (non transgenik), yaitu *wild type* Taipei-309, yang termasuk kategori sa-ngat tahan, tahan, agak tahan, agak peka, dan peka. Tanaman hanya menunjukkan kategori, sangat peka. Hal ini menunjukkan bahwa prosedur bioasai dapat diper-tanggung jawabkan, di samping diperoleh rataan intensitas serangan yang tinggi, yaitu 80% pada pengamatan sundep dan 70% pada pengamatan beluk.

Dari jumlah larva yang diinokulasikan tampak bahwa ulat total yang dapat ditemukan hanya sedikit, yaitu 11,32% (Tabel 1). Pada umumnya ulat yang ditemu-kan sudah mati atau hampir mati dengan bentuk fisik kurus dan berwarna hitam. Walaupun sukar untuk menghitung berapa jumlah larva yang hilang, tetapi pada tanaman yang sangat tahan didapati larva yang mati (hitam dan kering) dekat lu-bang gerakan, sedangkan ukuran larva masih sama seperti ketika diinokulasikan, yaitu larva instar 1. Diduga tanaman yang

sangat tahan tersebut dapat mengekspresikan protein *cryIA(b)* dalam jumlah yang cukup sehingga bersifat insektisidal terhadap hama penggerek yang menyerangnya.

Tanaman yang diuji saat ini sudah pernah diuji pada generasi sebelumnya baik secara bioasai maupun molekuler (uji PCR) sehingga sudah terseleksi (Dewi *et al.*, 2001; Santoso *et al.*, 2001). Pada tanaman yang positif PCR tersebut terbentuk 3 pita DNA melalui analisis southern blot (Santoso *et al.*, 2001). Dari 46 tanaman yang diuji masing-masing untuk saat vegetatif dan generatif diperoleh 27 tanaman (58,70%) pada uji saat vegetatif dan 26 tanaman (56,52%) pada uji saat generatif yang termasuk kategori agak tahan sampai tahan (data tidak disajikan). Tampak adanya variasi di dalam level ekspresi gen introduksi pada populasi tanaman trans-genik yang dihasilkan. Menurut Mlynarova *et al.* (1994), posisi integrasi gen introduksi (dikenal sebagai *positional effect*) di dalam genom akan menentukan dapat atau tidaknya gen tersebut terekspresi. Selain *positional effect*, hal lain yang dapat menyebabkan gen introduksi tidak dapat berekspresi adalah fenomena pembungkaman gen (dikenal sebagai *gene silencing*). Penyebab *gene silencing* antara lain, yaitu 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).

Analisis PCR walaupun dapat menunjukkan keberadaan gen introduksi dalam sel tanaman tetapi tidak dapat menentukan posisinya. Hanya gen yang

Tabel 3. Hasil uji ketahanan terhadap serangan hama penggerek batang padi kuning (*S. incertulas* Wlk.) pada nomor terpilih

Asal tanaman	Nomor tanaman	Ketahanan pada pengamatan gejala	
		Sundep	Beluk
T1-T-5B	5B-2	T	ST
T1-T-5H	5H-5 ¹	T	ST
	5H-7	AT	ST
	T2-B5-T1C ₇	B5-2, B5-2 ^B	ST
T2-B5-T1C ₇	B5-4	T	T
	B5-5	ST	ST
	T2-B6-T1C ₇	Tidak ada	-
T2-B24-T1C ₇	B24-1	AT	ST
	B24-2	ST	ST
	B24-3	ST	ST
	B24-4	ST	ST
	B24-5	ST	ST
	B24-6	ST	AT
	B24-7	AP	ST
T3-A1-T-4B	A1-3	T	ST
T3-A2-T-4B	A2-1 ^B	AT	ST
	A2-5	AT	AP
T3-A3-T-4B	A3-7	AT	T

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

ter-integrasi pada struktur eukromatin pada kromosom yang akan dapat diekspresikan. Namun demikian, pembuktian lebih lanjut melalui analisis terhadap ada tidaknya protein yang dihasilkan tetap diperlukan untuk mengetahui adanya *positional effect* atau *gene silencing*. Uji imuno strip atau Western Blot 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 trans-genik 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. Pada tanaman yang telah terseleksi, ekspresi gen akan menjadi lebih stabil pada generasi lanjut. Oleh karena itu, bioasai perlu terus dilanjutkan paling tidak sampai generasi T5.

Dari hasil bioasai dapat dipilih tanaman-tanaman yang akan diuji lebih lanjut berdasarkan tingkat ketahanannya terhadap hama penggerek batang padi. Pada Tabel 3 disajikan nomor-nomor tanaman terpilih untuk uji molekuler/PCR dan kemungkinan bioasai selanjutnya. Terpilih 1 nomor tanaman T1 yang berasal dari kalus T-5B dan 2 nomor dari T-5H, 10 tanaman T2 asal kalus T1-C₇ serta 4 tanaman T3 asal kalus T-4B dan yang mempunyai ketahanan terhadap hama penggerek padi kuning baik pada saat vegetatif maupun generatif.

KESIMPULAN

Dari bioasai tanaman transgenik putatif terhadap serangan hama penggerek saat pertumbuhan vegetatif (gejala sundep) terdapat 13 tanaman dengan kategori sangat tahan, 5 kategori tahan, 9 tanaman agak tahan, 12 tanaman agak peka, 5 tanaman peka, dan 2 tanaman sangat peka. Sementara itu, dari bioasai tanaman saat pertumbuhan generatif (gejala beluk) terdapat 19 tanaman yang termasuk kategori sangat tahan, 2 tanaman tahan, 5 tanaman agak tahan, 10 tanaman agak peka, 5 tanaman peka, dan 5 tanaman sangat peka. Tanaman yang mempunyai ketahanan terhadap hama penggerek padi kuning baik pada saat vegetatif maupun generatif, yaitu 1 nomor tanaman T1 yang berasal dari kalus T-5B dan 2 nomor dari T-5H, 10 tanaman T2 asal kalus T1-C₇, serta 4 tanaman T3 asal kalus T-4B.

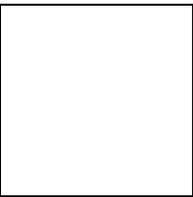
SARAN

Perlu dilakukan analisis terhadap level ekspresi protein gen *cryIA(b)* melalui uji Western Blot atau uji lainnya (imuno strip) untuk mengetahui penyebab bervariasinya hasil bioasai. Pengujian pada generasi selanjutnya

(*advance generation testing*) dianjurkan untuk mendapatkan ekspresi gen yang stabil.

DAFTAR PUSTAKA

- Damayanti, D., E. Sunarjo, 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.
- Dewi, I.S., Hanarida, I., D. Damayanti, A. Apriana, dan T.J. Santoso. 2001.** Evaluasi tanaman padi transgenik Balitbio terhadap hama penggerek batang. Laporan Hasil Penelitian Balitbio, Bogor. 12 hlm.
- 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 peng-gerek batang. Laporan Penelitian Balitbio, Bogor. 65 hlm.
- IRRI, 1996.** Standard evaluation system for Rice. International Rice Testing Program (IRTP). IRRI, Philippines. 44 p.
- 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.
- Kumpatla, 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. IRRI. The Phillipines.
- Santoso, T.J., A. Apriana, A.D. Ambarwati, I.S. Dewi, dan I.S. Hanarida. 2001.** Evaluasi diversitas genetik tanaman padi transgenik. Laporan Hasil Penelitan Balitbio. 11 hlm.
- Soejitno, J., I. Hanarida, dan 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 swasemba-da 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.