

Pemanfaatan Teknologi Transgenik Untuk Perakitan Varietas Unggul Kapas Tahan Kekeringan

EMY SULISTYOWATI

Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat
Indonesian Tobacco and Fibre Crops Research Institute
Jl. Raya Karangploso, Kotak Pos 199, Malang 65152

Terima tanggal 23 Agustus 2009. Disetujui tanggal 2 November 2009

ABSTRAK

Diantara cekaman abiotik yang berpengaruh terhadap kapas, maka cekaman kekeringan merupakan faktor utama pembatas produktivitas dan pengembangan kapas. Pengembangan kapas Indonesia kedepan lebih difokuskan pada lahan-lahan kering tadah hujan, maka upaya untuk perbaikan ketahanan varietas terhadap kekeringan sangat diperlukan. Hasil pengujian ketahanan terhadap kekeringan secara langsung ataupun tak langsung menggunakan simulasi PEG telah menghasilkan informasi tentang tingkat ketahanan beberapa aksesori plasma nutfah kapas. Pemanfaatan plasma nutfah kapas dalam persilangan melalui pengumpulan dan piramida gen toleran kekeringan dan serangan hama penghisap *A. biguttula* telah menghasilkan dua varietas baru yaitu Kanesia 14 dan Kanesia 15. Selain pendekatan pemuliaan konvensional, juga terbuka peluang pengembangan varietas baru kapas tahan kekeringan melalui transformasi gen yang menghasilkan kapas transgenik tahan kekeringan. Pendekatan transgenik berpeluang untuk mengkombinasikan beberapa gen penyandi sifat-sifat yang berbeda yang berasal dari spesies lain ke dalam genom kapas. Beberapa gen telah ditransformasikan ke dalam beberapa tanaman antara lain arabidopsis, tembakau, tomat, padi, dan kapas yang telah menghasilkan varietas baru tahan kekeringan. Dukungan teknologi berupa varietas tahan kekeringan atau sifat-sifat unggul lainnya harus diimbangi dengan dukungan teknologi budidaya yang efisien sehingga peningkatan produksi kapas secara signifikan dapat tercapai.

Kata kunci: *Gossypium hirsutum* L., transgenik, toleran kekeringan

ABSTRACT

The Use of Transgenic Approach in Developing Drought Tolerant Cotton Varieties

Among abiotic stresses, drought is the most crucial factor that influence cotton's productivity and

development. As cotton development in Indonesia is focused in dry-rainfed areas, measures for developing drought tolerance varieties are needed. Evaluation of cotton accessions tolerance to drought has been done directly in the field, or indirectly by PEG simulation and resulted in drought tolerance cotton accessions. Hybridization by genes pooling or gene-pyramiding approaches involving selected accessions which are tolerant to drought and jassids attack, *A. biguttula*, have resulted in two new cotton varieties namely Kanesia 14 and Kanesia 15. In addition to conventional breeding, there are new avenues to engineer transgenic cotton varieties resistant to drought. by transforming the identified genes responsible for drought resistance. Transgenic technologies could combine several genes responsible for different characters in cotton genome. A number of genes have been transformed into various plants such as arabidopsis, tobacco, tomato, rice, and cotton, and have conferred improved resistance to drought. Technology support in terms of high yielding promising varieties resistant to drought or other characters should be accomplished with efficient farming techniques so that significant increase in cotton production can be achieved.

Keyword: *Gossypium hirsutum* L., transgenic, drought tolerant

PENDAHULUAN

Pengembangan kapas di Indonesia menyebar di beberapa daerah yaitu Propinsi Jawa Timur, Jawa Tengah, Daerah Istimewa Yogyakarta, Bali, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, dan Sulawesi Selatan. Sebagian besar daerah pengembangan kapas adalah lahan kering dengan iklim *erratik* sehingga kekeringan selalu menghantui pengembangan kapas rakyat. Iklim *erratik* tersebut seringkali diperparah dengan terjadinya kemarau panjang dengan intensitas semakin kuat. Padahal pengairan di

daerah-daerah tersebut hanya menggantungkan pada air hujan (tadah hujan).

Alokasi pengembangan kapas pada lahan tadah hujan yang relatif marginal, disebabkan oleh kompetisi dengan tanaman pangan yang mendapatkan perhatian lebih besar, bukan hanya pada luas areal pengembangannya melainkan juga pada alokasi kelas-kelas tanah berdasarkan kesesuaiannya. Padahal diantara cekaman abiotik yang berpengaruh terhadap kapas, kekeringan merupakan faktor pembatas utama bagi produktivitas kapas. Pada daerah tadah hujan, pengembangan kapas tanpa tambahan irigasi tidak mampu menghasilkan kapas berbiji secara optimal, sehingga perluasan areal pengembangan kapas tidak diimbangi dengan peningkatan produksi (Mardjono, 2005). Untuk tumbuh dengan baik, kapas memerlukan curah hujan 500-1.600 mm selama 120 hari pertumbuhan dengan curah hujan bulanan tidak melebihi 400 mm (Riajaya, 2002). Selain jumlah curah hujan secara kumulatif, keberhasilan budidaya kapas juga ditentukan oleh tercukupinya kebutuhan air kapas sesuai perkembangan tanaman. Dengan demikian, pada areal pengembangan kapas dengan iklim *erratik* dimana curah hujan terkonsentrasi pada awal pertumbuhan tanaman yang kebutuhan airnya relatif sedikit dan kemudian terhenti pada saat kebutuhan air kapas tinggi, maka produktivitas kapas akan sangat rendah.

Dengan mempertimbangkan pengembangan kapas kedepan akan difokuskan pada lahan-lahan kering tadah hujan, maka upaya perbaikan varietas untuk ketahanan terhadap kekeringan sangat diperlukan. Berkaitan dengan hal tersebut, Sangakkara (2001) menyetengahkan tiga hal penting yaitu 1) perbaikan pengelolaan tanaman, 2) seleksi dan perakitan varietas yang mampu menyesuaikan dengan kondisi cekaman/keterbatasan air, dan 3) pendekatan bioteknologi untuk rekayasa varietas tahan kekeringan. Program perbaikan varietas tahan kekeringan perlu mendapatkan perhatian besar karena karakter tersebut disandi oleh suatu kompleks gen yang terlibat dalam jejaring lintasan biokimia tanaman (Bohnert and Jensen, 1996; Ingram and Bartels, 1996).

Makalah ini menyajikan upaya-upaya yang telah dilakukan dalam mengembangkan varietas kapas tahan kekeringan, peluang, tantangan serta implikasi pemanfaatan teknologi transgenik dalam merekayasa varietas kapas transgenik tahan kekeringan.

MEKANISME KETAHANAN KAPAS TERHADAP KEKERINGAN

Respon tanaman terhadap kekeringan dimulai dengan diterimanya signal-signal stres yang mampu menginisiasi siklus-siklus transduksi dalam tanaman yang menyebabkan berbagai perubahan fisiologi. Mekanisme ketahanan tanaman terhadap kekeringan dibedakan menjadi tiga kategori, yaitu '*drought escape*' atau lolos dari kekeringan, '*dehydration postponment*' atau penundaan terhadap proses dehidrasi, dan '*dehydration tolerance*' atau toleransi terhadap proses dehidrasi (Turner, 2003). Pada saat terjadi kekeringan, akan terjadi perubahan metabolisme dalam akar tanaman yang menghasilkan signal-signal biokimia pada tunas dan secara otomatis menyebabkan penurunan kecepatan tumbuh, konduksi stomata, fotosintesis, dan tekanan osmotik dalam jaringan/sel tanaman (Bressan, 1998).

Salah satu mekanisme alami yang melindungi sel-sel tanaman dari ancaman kekeringan, salinitas, suhu rendah dan faktor stres lainnya adalah akumulasi asam amino dan amida, serta gula yang berperan dalam meningkatkan tekanan osmotik sel (Bohnert *et al.*, 1995). Kuznetsov *et al.* (1999) melaporkan bahwa akumulasi asam amino asparagin, prolin dan arginin dalam sel tanaman kapas meningkat sebagai reaksi terhadap suhu tinggi dan defisiensi air. Aspek-aspek tersebut merupakan indikator terjadinya perubahan metabolisme nitrogen. Peningkatan prolin selain berkorelasi dengan defisiensi air, juga berkorelasi dengan salinitas (Kuznetsov and Shevyakova, 1997).

Berkaitan dengan ketahanan tanaman terhadap kekeringan, Nepomuceno *et al.*, (1998) menerangkan bahwa dengan mempertahankan potensial air dalam sel-selnya, genotipa-genotipa kapas toleran terhadap kekeringan mampu mempertahankan laju fotosintesa, tingkat

konduksi stomata, dan kandungan air sel seperti pada kondisi tanpa cekaman. Berkaitan dengan tingkat konduksi stomata, Ulloa *et al.* (2000) menyatakan bahwa seleksi aksesori kapas untuk ketahanan kekeringan dapat dilakukan dengan mengobservasi tingkat konduksi stomata yang rendah yang berkaitan dengan potensi produksi yang rendah pula.

Ketahanan tanaman terhadap kekeringan secara umum dipengaruhi oleh hormon ABA yang berperan dalam mediasi pengendalian aktivitas stomata. Produksi hormon tersebut disandi oleh gen ERA1, sehingga penghambatan aksi gen tersebut menyebabkan tanaman menjadi sangat sensitif terhadap kekeringan. Sebaliknya dengan menutup ekspresi gen tersebut, maka stomata akan tertutup sehingga kehilangan air tanaman dapat dikendalikan dan tanaman mampu tetap bertahan dalam kondisi kekeringan (Pei *et al.*, 1998; Cellier *et al.*, 1998).

Selain faktor genetik dalam tanaman, Muller and Whitsitt (1996) menyebutkan bahwa respon tanaman terhadap kondisi kekeringan sangat dipengaruhi oleh tingkat cekaman dan lamanya periode cekaman. Oleh karena itu Edmeades *et al.* (2001) menyatakan bahwa diperlukan tindakan-tindakan intervensi secara agronomis meliputi irigasi dan fertigasi, pengendalian terhadap pengompakan tanah, perbaikan kesuburan tanah secara organik, dan penggunaan model simulasi pertanaman untuk menentukan waktu tanam, jenis komoditas yang ditanam, varietas, dan dosis pupuk yang diaplikasikan.

Dabaeke and Aboudrare (2004) menyarankan bahwa strategi untuk menangani masalah kekeringan meliputi 1) meningkatkan kandungan air tanah pada saat pengolahan tanah, 2) peningkatan pemanfaatan air tanah, 3) reduksi kontribusi evaporasi tanah terhadap total penggunaan air, 4) optimalisasi model penggunaan air musiman sebelum dan sesudah pembungaan, 5) peningkatan toleransi tanaman terhadap cekaman kekeringan dan kemampuan *recovery* setelah cekaman kekeringan, dan 6) melakukan irigasi pada fase-fase yang paling sensitif bagi komoditas pertanian. Ke-6 strategi tersebut dapat dicapai dengan paket teknologi yang terdiri dari metoda pengolahan tanah,

varietas tahan kekeringan, waktu tanam, kepadatan populasi, pemupukan N, serta penjadwalan dan pengaturan volume air irigasi.

POTENSI PLASMA NUTFAH DAN GENE-POOL UNTUK PERAKITAN VARIETAS KAPAS BARU TOLERAN KEKERINGAN

Kekayaan plasma nutfah dan variasi genetik didalamnya sangat berpengaruh terhadap keberhasilan program pengembangan varietas baru. Saat ini, koleksi plasma nutfah kapas di Balittas terdiri dari 662 aksesori yang terdiri dari 642 aksesori *Gossypium hirsutum*, 4 aksesori *G. barbadense*, 3 aksesori *G. arboreum*, dan 3 aksesori *G. herbaceum*. *G. hirsutum* dan *G. barbadense* memiliki genom tetraploid, sedangkan *G. arboreum* dan *G. herbaceum* memiliki genom diploid.

Upaya untuk menilai tingkat ketahanan koleksi plasma nutfah kapas terhadap kekeringan telah dilakukan terhadap sebagian dari koleksi plasma nutfah kapas yang ada, baik secara langsung di lapang maupun secara tak langsung dengan simulasi menggunakan PEG di laboratorium. Dalam kondisi tercekam PEG tersebut, aksesori Albar G 501, Auburn 200, dan Stoneville 302 merupakan aksesori-aksesori yang mampu membentuk jumlah akar banyak dan panjang, disamping itu perkembangannya juga lebih baik dibandingkan aksesori lainnya yang ditunjukkan dengan berat basah dan kering akar yang lebih tinggi, serta perkembangan hipokotil yang lebih sehat dan lebih panjang dibandingkan aksesori lainnya. Akan tetapi bila diklasifikasikan berdasarkan tingkat sensitivitasnya terhadap cekaman kekeringan dengan simulasi PEG 6000 pada tekanan potensial air -2.21 bar, maka LRA 5166 dan galur (351x268)/4 adalah dua aksesori yang dikategorikan toleran dengan nilai frekuensi $S < 0.95$ berturut-turut sebesar 63.64% dan 59,10% (Sulistyowati *et al.*, 2008). LRA 5166 adalah aksesori yang berasal dari India yang memiliki ukuran daun kecil dan tingkat evapotranspirasinya cenderung rendah. Pettigrew (2004) menyatakan bahwa ukuran daun kecil berasosiasi dengan ketahanan terhadap kekeringan. Sedangkan aksesori (351x268)/4 adalah aksesori yang diperoleh dari kegiatan *gene pooling* sifat-sifat ketahanan

terhadap kekeringan yang berasal dari aksesori LRA 5166 dan ALBAR G 501 yang berasal dari Afrika. Dengan demikian aksesori ini telah menunjukkan perbaikan ketahanan terhadap kekeringan dibandingkan tetua jantannya ALBAR G 501. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Basal *et al.* (2005) bahwa akar dapat digunakan sebagai parameter untuk skrining ketahanan terhadap kekeringan, dan aksesori-aksesori dalam *gen-pool* CRS (*converted race stocks*) yaitu M-9044-0031-R, M-9044-0045-NR, M-9044-0057-NR, dan M-9044-0175-R adalah aksesori-aksesori kapas sumber gen ketahanan terhadap kekeringan. Aksesori-aksesori tersebut belum dimiliki oleh koleksi plasma nutfah kapas Balittas. Leidi *et al.* (1999) menyatakan bahwa terdapat variasi genetik untuk parameter fisiologi diskriminasi karbon isotop diantara kapas-kapas dataran tinggi, dan terdapat interaksi yang cukup kompleks antara proses-proses fisiologi dan kondisi lingkungan. Sebaliknya menurut Bange *et al.* (2004), kapas dalam kondisi tergenang akan mengalami penurunan total luas daun yang berakibat pada menurunnya produktivitas tanaman karena efisiensi penggunaan radiasi yang berkurang sampai 35%. Ketersediaan koleksi plasma nutfah yang terbatas sangat membatasi upaya perbaikan varietas kapas. Oleh karena itu sangat diperlukan upaya-upaya untuk memperluas variasi genetik dalam koleksi yang ada melalui eksplorasi maupun tukar menukar plasma nutfah. Dalam rangka memacu pengembangan varietas yang tahan kekeringan, informasi tentang *gene pool* dari sifat-sifat ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik, produktivitas, dan mutu serat kapas sangat diperlukan. Dengan demikian kegiatan evaluasi dan karakterisasi aksesori dalam plasma nutfah harus diintensifkan. Berkaitan dengan pengembangan varietas tahan kekeringan, perlu dikembangkan marka morfologi seperti luas dan berat daun spesifik, marka fisiologi antara lain diskriminasi isotop karbon, laju fotosintesa dan transpirasi, konduksi stomata, potensial osmotik daun dan kadar air pada daun (Leidi *et al.*, 1999), maupun marka molekular dalam rangka mengembangkan seleksi berbantuan marka (*marker assisted selection/MAS*). Khusus untuk marka DNA, penelitian oleh Saranga *et al.* (2004)

menghasilkan 33 *quantitative trait loci* (QTL) yang berasosiasi dengan 5 variabel fisiologi yaitu tekanan osmotik, efisiensi penggunaan air (*water use efficiency*) yang diukur secara tidak langsung dengan radio isotop karbon $\delta^{13}\text{C}$, temperatur kanopi, dan klorofil a dan klorofil b. Selain itu juga telah teridentifikasi 46 QTL yang berasosiasi dengan 5 komponen produksi, meliputi berat kering, berat kapas berbiji, indeks panen, berat buah, dan jumlah buah. Hasil-hasil penemuan tersebut di atas dapat diadopsi dalam rangka percepatan upaya pengembangan varietas kapas tahan kekeringan.

PERKEMBANGAN PROGRAM PERAKITAN VARIETAS KAPAS TAHAN KEKERINGAN DI INDONESIA

Dengan keterbatasan plasma nutfah dalam koleksi Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, beberapa set persilangan telah dilakukan baik dengan pendekatan piramida gen ataupun pengumpulan gen-gen ketahanan terhadap kekeringan. Adapun aksesori-aksesori yang telah digunakan dalam kegiatan perbaikan varietas tersebut disajikan dalam Tabel 1.

Sampai dengan tahun 2008, terdapat lima set persilangan dengan total nomor persilangan sebanyak 77 kombinasi yang melibatkan aksesori-aksesori plasma nutfah kapas yang berasal dari berbagai negara seperti Afrika, India, Zimbabwe, USA, Thailand, Perancis, Laos, Kamboja, dan Indonesia. Pemilihan aksesori didasarkan pada keunggulan dari segi produktivitas, ketahanan terhadap hama terutama *A. biguttula* dan kekeringan serta mutu serat yang tinggi.

Dari hasil persilangan menggunakan pendekatan metoda pengumpulan dan piramida gen dari aksesori-aksesori yang memiliki toleransi tinggi terhadap kekeringan dan yang toleran terhadap hama penghisap *A. biguttula* yang dilaksanakan pada tahun 1996 dan 1997 tersebut di atas, telah diperoleh dua galur unggul yaitu (339x448)² dan (135x182)(351 x 268)⁹ yang memiliki produktivitas tinggi, tahan terhadap *A. biguttula*, tahan terhadap kekeringan, dan mutu serat tinggi (Sumartini *et al.*, 2008) yang telah diusulkan pelepasannya pada sidang pelepasan varietas tahun 2007. Kedua galur tersebut telah

Tabel 1. Program persilangan untuk perakitan varietas kapas tahan kekeringan

Tahun	Jenis Persilangan	Asal	Pendekatan Pemuliaan	Tujuan Pemuliaan	
1996	Reba B 50 x Reba BRT-12 (GP 01) MCU 5 x Auburn 200 (GP 02) LRA 5166 x Albar G 501 (GP 03) ISA 205 A x ALA-73-2M (GP 04)	Afrika, India, USA, India, Zimbabwe, Perancis	Piramida Gen	Memperbaiki ketahanan thd. kekeringan	
1997	GP 01 x GP 02 GP 03 x GP 04	Eks persilangan 1996	Pengumpulan Gen	Meningkatkan ketahanan thd. kekeringan	
1997	<u>Tetua Betina</u> ALA-73-2M MCU 9 RBTK 12 Thai G Cot 100 Pusa 1 Quebracho	<u>Tetua Jantan</u> DPL Acala 90 Acala 1517 E-2 Acala 1517 BR-2 DP 5690	Perancia, India, Thailand, USA, Perancis	Piramida Gen	Memperbaiki ketahanan thd. kekeringan
1998	<u>Tetua Betina</u> SRT 1 LRA 5166	<u>Tetua Jantan</u> KI 100 KI 390	India, USA, Nicaragua	Piramida Gen	Memperbaiki ketahanan thd. kekeringan
2003	<u>Tetua Betina</u> KI 589 KI 590 KI 592 KI 603 KI 390 KI 605 DP 5415 DP 5690 KI 645 Cambodia	<u>Tetua Jantan</u> Mysore Vijaya Laxmi	USA, Kamboja, India	Piramida Gen	Memperbaiki ketahanan thd. kekeringan
2003	(GP 03 x GP 04) x (GP 01 x GP 02) → persilangan 8 tetua	Eks persilangan 1997	Pengumpulan Gen	Meningkatkan ketahanan thd. kekeringan	
2006	<u>Tetua Betina</u> KI 645 ISA 205 A DPL Acala 90 Kanesia 7 Kanesia 8 Kanesia 9	<u>Tetua Jantan</u> Albar G 501 RBTK 12 Thai Laxmi Fainai	USA, Perancis, USA, Indonesia, Zimbabwe, Thailand, India, Laos	Piramida Gen	Memperbaiki ketahanan thd. kekeringan

dilepas secara resmi oleh Menteri Pertanian melalui SK Mentan No. 506/Kpts/SR.120/9/2007 dan No. 507/Kpts/SR.120/9/2007 dengan nama berturut-turut Kanesia 14 dan Kanesia 15.

Kanesia 14 berasal dari hasil persilangan empat tetua yaitu antara (Reba B-50 X Reba BTK 12-Thailand) dan (MCU9 X Auburn 200), produktivitasnya berkisar antara 995 - 2135 kg kapas berbiji /ha. Pada Kanesia 14, sifat produksi tinggi dari Reba B-50 dan Reba BTK-12 berkumpul dengan gen-gen penyandi ketahanan terhadap kekeringan dari aksesori-aksesori MCU 9 dan Auburn 200, dan sifat toleransi terhadap *A. biguttula* yaitu melalui ketahanan mekanis akibat adanya bulu yang lebat pada daun dan batang

yang didonorkan oleh empat tetua tersebut di atas. Adapun potensi genetik dari varietas ini, yaitu pada kondisi pengairan optimal, mampu menghasilkan 3.933 kg kapas berbiji /ha. Mutu dan kandungan serat Kanesia 14 memenuhi persyaratan yang diinginkan oleh industri tekstil, yaitu kehalusan serat 4,7 mikroner, kekuatan serat 31,16 g/tex, panjang serat 28,45 mm, kerataan panjang serat 84,66 %, mulur serat 6,13 % dan kandungan seratnya 38,96 %.

Kanesia 15 merupakan hasil piramida gen ketahanan terhadap kekeringan, produktivitas dan mutu serat tinggi yang dimiliki oleh ISA 205 A dengan gen toleransi terhadap *A. biguttula* yang didonorkan oleh ALA 73-2M. Varietas ini

pada kondisi pemberian air terbatas produktivitasnya berkisar antara 962 – 2.237 kg kapas berbiji /ha, dan pada kondisi pengairan optimal Kanesia 15 memiliki potensi produktivitas 3.617 kg kapas berbiji /ha. Sementara itu, keunggulan Kanesia 15 dibandingkan dengan Kanesia 8 adalah mutu seratnya, yaitu kehalusan serat 4,9 mikroner, kekuatan serat 32.16 g/tex, panjang serat 29,97 mm, kerataan panjang serat 86,46 % , dan mulur serat 5,63 %. Adapun kandungan serat Kanesia 15 mencapai 44 % atau 3% lebih tinggi dari Kanesia 8.

Selain galur-galur unggul yang telah dilepas menjadi varietas unggul nasional tersebut di atas, maka galur-galur yang lain yang diperoleh dari persilangan-persilangan tersebut di atas masih dalam tahap pengujian galur. Galur-galur harapan selanjutnya akan diuji pada beberapa lokasi untuk memperoleh galur-galur unggul yang siap diusulkan pelepasannya sekitar tahun 2012.

Pengembangan varietas secara konvensional melalui hibridisasi tetua-tetua terpilih terutama dengan mengumpulkan gen-gen sumber ketahanan terhadap kekeringan perlu dilanjutkan, seperti halnya persilangan ganda delapan tetua yang dilaksanakan tahun 2003 (Tabel 1), karena pendekatan tersebut telah menghasilkan varietas Kanesia 14 yang memiliki toleransi terhadap kekeringan lebih tinggi dibandingkan varietas yang lain.

PELUANG TEKNOLOGI TRANSGENIK DALAM PENGEMBANGAN VARIETAS KAPAS TAHAN KEKERINGAN

Fenomena pemanasan global diramalkan akan menyebabkan terjadinya musim kering yang berkepanjangan. Oleh karena itu, upaya-upaya untuk mengembangkan varietas kapas tahan kekeringan harus mendapat perhatian yang besar. Selain upaya pengembangan varietas baru kapas tahan kekeringan melalui pendekatan pemuliaan konvensional, juga terbuka peluang pemanfaatan teknologi transgenik untuk mengembangkan varietas kapas transgenik tahan kekeringan. Dengan teknologi transgenik, maka sumber gen ketahanan terhadap kekeringan tidak saja harus berasal dari spesies tanaman yang

sama melainkan dapat berasal dari spesies lain. Dengan demikian tidak ada batasan latar belakang genetik donor gen ketahanan terhadap kekeringan, dan sangat dimungkinkan untuk merekayasa kapas yang mengekspresikan gen-gen penyandi ketahanan terhadap kekeringan yang berasal dari spesies lain, misalnya kacang-kacangan, ataupun bakteri sekalipun.

Gen-gen penyandi sifat ketahanan terhadap kekeringan telah diidentifikasi di luar negeri, dan siap diadaptasikan di Indonesia. Bahkan hasil penelitian *microarray* telah mampu mengidentifikasi gen-gen yang terinduksi oleh berbagai cekaman abiotik. Gen-gen tersebut berfungsi tidak saja dalam melindungi sel-sel tanaman dari kerusakan akibat cekaman abiotik dengan menghasilkan protein-protein esensial, melainkan juga meregulasi gen-gen yang aktif dalam proses transduksi signal sebagai respon tanaman terhadap cekaman. Menurut Yamaguchi—Shinozaki and Shinozaki (2006) produk-produk gen yang terkait dengan respon terhadap cekaman diklasifikasi menjadi dua kelompok. Kelompok I adalah protein yang berfungsi sebagai toleransi terhadap cekaman antara lain *chaperone*, protein-protein LEA, osmotin, protein *antifreeze*, mRNA-*binding protein*, dan enzim-enzim untuk biosintesis osmolit (antara lain proline, proteinase inhibitor, dan ferritin). Sedangkan kelompok II adalah protein yang terkait dengan proses transduksi signal dan ekspresi gen yang berfungsi dalam kondisi tercekam, antara lain protein kinase, protein fosfatase, enzim-enzim dalam metabolisme fosfolipida, dan molekul-molekul yang berfungsi sebagai signal antara lain *calmodulin-binding protein*.

Beberapa penelitian telah berhasil mengidentifikasi gen-gen yang terkait dengan ketahanan terhadap kekeringan pada kapas. Voloudakis *et al.* (2002) menyebutkan bahwa gen-gen yang berkorelasi dengan ketahanan terhadap kekeringan pada kapas antara lain adalah 1) *trehalose-6-P synthase*, 2) *Heat-shock protein calmodulin-binding* (HSPBC) homolog, 3) *late embryogenesis abundant* (Lea) 14A dan 5D, 4) NAD(P)H *oxydase*, dan 5) ubiquitin. Akses-aksesi kapas yang toleran terhadap kekeringan, selain menunjukkan ekspresi dari gen-gen

tersebut di atas maka secara fisiologi dan morfologi menunjukkan karakter-karakter resistensi stomata dan potensial air yang tinggi, serta total luas daun yang rendah. Adapun karakter tanaman lain yang berkaitan dengan ketahanan terhadap kekeringan secara berkala antara lain adalah penyesuaian tekanan osmotik pada akar dan tunas, efisiensi transpirasi, kedalaman dan kerapatan akar, akumulasi asam absisik dan prolin, status air letal tanaman yang rendah, dan sensitivitas terhadap fotoperiodisitas (Ludlow and Muchow, 1990, Turner *et al.*, 2001). Lebih lanjut Edmeades *et al.* (2001) menyebutkan bahwa peningkatan ekspresi gen yang menghasilkan antioksidan misalnya *superoxide dismutase* (SOD), dan gen yang menghasilkan protektan misalnya *glycinebetaine* juga

berperanan dalam peningkatan ketahanan tanaman terhadap kekeringan.

Beberapa gen telah ditransformasikan ke dalam beberapa tanaman antara lain arabidopsis, tembakau, tomat, dan padi, dan menghasilkan peningkatan toleransi terhadap kekeringan (Tabel 2) sebagaimana disarikan dari Bartels and Sunkar (2005). Gen-gen tersebut antara lain gen TPS1 dari ragi yang berperan aktif dalam biosintesa trehalose, gen P5CS yang aktif dalam biosintesa proline, gen SacB dari *Bacillus subtilis* yang memiliki peranan dalam sintesa fruktan, *betA* dan *betB* dari *Escherichia coli* yaitu gen penyandi produksi glycine betaine, gen ADC dari tanaman *serealia oat* yang menyandi produksi enzim *arginine decarboxylase*, gen ODC dari ragi dan tikus dari menyandi produksi enzim *ornithin*

Tabel 2. Gen-gen yang ditransformasikan pada komoditas pertanian untuk menghasilkan tanaman transgenik tahan kekeringan

Gen	Spesies Tanaman	Eksresi tanaman transgenik
<i>DREB 1A</i>	Arabidopsis	Peningkatan toleransi terhadap kekeringan dan mampu bertahan 2 minggu tanpa pengairan, serta aktivasi gen <i>rd29A</i> yang berkaitan dengan toleransi terhadap stress.
<i>OsDREB1A</i> <i>CBF 4</i> <i>ABF3 / ABF4</i> <i>CpMYB10</i>		Peningkatan toleransi terhadap kekeringan Peningkatan toleransi terhadap kekeringan Peningkatan toleransi terhadap kekeringan karena penurunan transpirasi Peningkatan toleransi terhadap kekeringan dan daya berkecambah yang lebih tinggi.
<i>AtALDH3</i> Sense- <i>AtNCED3</i>		Peningkatan toleransi terhadap kekeringan melalui penurunan peroksidasi lemak Peningkatan toleransi terhadap kekeringan melalui penurunan kapasitas transpirasi.
<i>AVP1</i> <i>ADR1</i>		Peningkatan toleransi terhadap kekeringan melalui reduksi pembukaan stomata. Peningkatan toleransi terhadap kekeringan melalui induksi ekspresi gen yang terkait dengan respon terhadap dehidrasi antara lain ERD11 dan GST.
<i>CBF1</i> atau <i>DREB 1B</i> <i>ZPT 2-3</i>	Tomat Petunia	Peningkatan toleransi terhadap kekeringan; aktivasi gen catalase dan penurunan akumulasi H ₂ O ₂
<i>P5CS</i>	Padi	Peningkatan toleransi terhadap kekeringan dan menunjukkan perbaikan kemampuan tumbuh.
<i>OtsA</i> dan <i>OtsB</i>		Peningkatan toleransi terhadap kekeringan dengan peningkatan akumulasi biomas.
<i>TPS</i> dan <i>TPP</i>		Peningkatan toleransi terhadap kekeringan melalui pertumbuhan tanaman yang lebih baik dan kerusakan fotooksidatif yang lebih rendah.
<i>OsCDPK</i>		Peningkatan toleransi terhadap kekeringan melalui peningkatan pertumbuhan dan kapasitas fotosintesis
<i>TPS 1</i> <i>IMT 1</i>	Tembakau	Peningkatan toleransi terhadap kekeringan melalui peningkatan pertumbuhan dan kapasitas fotosintesis melalui penguatan respon gen-gen yang berasosiasi dengan stres pada padi antara lain <i>rab16A</i> , <i>saT</i> , dan <i>wsi18</i> Peningkatan toleransi terhadap kekeringan dengan meningkatkan kapasitas retensi kelembaban.
<i>OtsA</i> dan <i>OtsB</i>		Peningkatan toleransi terhadap kekeringan melalui penurunan hambatan pada kecepatan fotosintesa, dan <i>stress recovery</i> yang lebih baik.
<i>Ascorbate</i>		Peningkatan toleransi terhadap kekeringan melalui peningkatan luas daun, tingkat fotosintesa dan kemampuan mempertahankan air sel yang lebih baik.
		Peningkatan toleransi terhadap kekeringan melalui peningkatan kapasitas fotosintesis

decarboxylase, gen *SAMDC* yang diisolasi dari manusia penyandi produksi enzim *S-adenosyl-methionine decarboxylase*, dan gen *SOD* dari kacang-kacangan yang menyandi produksi enzim *superoxide dismutase* (Mitra, 2001, Jauhar, 2006). Pemanfaatan teknologi transgenik telah membuka peluang untuk merakit varietas baru kapas tahan kekeringan dan berproduksi tinggi untuk mendukung pengembangan kapas nasional.

Telah cukup banyak penelitian dalam rangka pengembangan kapas transgenik toleran terhadap kekeringan. Su-Lian *et al.* (2009) meneliti kapas transgenik yang mengekspresikan gen *TsVP* yang diisolasi dari organisme *Thellungiella halophila* yang ditransformasikan ke dalam genom varietas Lumianyan 19 and Lumianyan 21. Varietas kapas transgenik yang diperoleh memberikan ketahanan terhadap kekeringan karena memiliki aktivitas $V-H^+PPase$ yang lebih tinggi. Selain itu kapas transgenik yang dihasilkan juga menunjukkan pertumbuhan tunas dan akar lebih baik, kandungan klorofil yang lebih tinggi, efisiensi fotosintesa yang lebih tinggi, dan kerusakan membran sel yang lebih rendah. Hal tersebut berakibat pada peningkatan produktivitas 40-51%. Penelitian Parkhi *et al.* (2009) menunjukkan bahwa transformasi gen *osmotin* yang diisolasi dari tembakau ke dalam genom kapas menghasilkan kapas transgenik dengan gejala kelayuan lebih lambat dan pemulihan yang lebih cepat serta didukung oleh kandungan proline dalam daun yang lebih tinggi, dan penurunan kandungan H_2O_2 , peroksidasi lemak, dan kebocoran elektrolit dari sel.

IMPLIKASI PENGEMBANGAN VARIETAS KAPAS TRANSGENIK TAHAN KEKERINGAN

Pengembangan kapas ke depan diharapkan mampu meningkatkan produksi serat kapas nasional dalam rangka menekan ketergantungan akan serat kapas eks impor. Target pemerintah adalah kontribusi serat kapas domestik dalam memasok serat bagi industri tekstil nasional mencapai 10% pada tahun 2010. Dalam program jangka panjang sampai dengan 2025, pengembangan kapas nasional bertujuan untuk

mencapai beberapa sasaran, yaitu (1) areal tanam seluas 300 ribu ha; (2) produksi kapas berbiji 450 ribu ton setara sekitar 150 ribu ton serat kapas; dan (3) target capaian produksi tersebut diharapkan dapat memberikan kontribusi pada Industri Tekstil dan Produk Tekstil (ITPT) sekitar 30 % dari kebutuhan bahan baku kapas saat ini sekitar 500 ton per tahun. Target tersebut akan ditempuh melalui pendekatan ekstensifikasi dengan meningkatkan luas areal pengembangan kapas dan pendekatan intensifikasi, antara lain dengan penggunaan varietas kapas unggul.

Peluang perluasan areal kapas lebih terkonsentrasi pada lahan kering yang pengairannya hanya berasal dari curah hujan. Pengembangan varietas toleran terhadap kekeringan menggunakan pendekatan transgenik berpeluang untuk memecahkan masalah kekeringan tersebut di atas. Pada era tahun 90-an, pengembangan kapas transgenik dilakukan melalui proses somatik embriogenesis yang sangat dipengaruhi oleh faktor latar belakang genetik sumber eksplan dan memakan waktu yang cukup lama (Cousins *et al.*, 1991). Akan tetapi masalah ini telah terpecahkan dengan proses induksi tunas langsung yang tidak dipengaruhi oleh latar belakang genetik sumber eksplan (Gould and Magallanes-Cedeno, 1998) ataupun menggunakan teknik transformasi langsung pada tabung pollen yang dikenal dengan *pollentube transformation* (Song *et al.*, 2007).

Berdasarkan terobosan-terobosan di bidang transformasi genetik kapas tersebut di atas, maka pengembangan varietas kapas transgenik tahan kekeringan dapat langsung menggunakan varietas unggul nasional produktivitas tinggi dan kemampuan beradaptasi tinggi terhadap agroekosistem pengembangan kapas di Indonesia. Misalnya, Kanesia 8 yang saat ini merupakan varietas yang digunakan secara luas dalam program akselerasi kapas nasional berpotensi untuk ditransformasi dengan gen penyandi sifat ketahanan terhadap kekeringan, sehingga varietas transgenik yang akan dihasilkan memiliki tingkat produktivitas dan mutu yang sama dengan Kanesia 8 serta lebih tahan kekeringan. Dengan demikian, varietas kapas transgenik tahan kekeringan yang akan

dihasilkan memiliki produktivitas tinggi, mutu seratnya telah sesuai dengan kebutuhan industri tekstil nasional. Semua varietas kapas unggul nasional berpeluang untuk direkayasa secara genetik untuk meningkatkan ketahanannya terhadap kekeringan.

Dengan kemajuan teknologi transgenik, terbuka peluang untuk melakukan transformasi lebih dari satu gen ke dalam genom kapas dengan tujuan untuk menambahkan sifat-sifat unggul lainnya yang tidak dapat diperoleh melalui pemuliaan konvensional. Dengan demikian gen-gen penyandi ketahanan terhadap kekeringan dapat dikombinasikan dengan gen-gen penyandi ketahanan terhadap hama penggerek seperti gen *Cry* (Greenplate *et al.*, 2003) atau gen lain yang merupakan kelompok proteinase inhibitor (Larry and Richard, 2002), dengan gen-gen yang berpengaruh terhadap peningkatan produktivitas melalui peningkatan ukuran buah antara lain *expansin* (Zafar *et al.*, 2007). Selain itu, teknologi transgenik juga berpeluang dalam memperbaiki mutu serat antara lain *sucrose phosphate synthase*, *extensin*, *lipid transfer proteins* (LTPs), *tubulin* dan *actin* (Haigler *et al.*, 2000; Zafar *et al.* 2007).

Selain pengembangan varietas tahan kekeringan, upaya-upaya untuk pengelolaan tanaman dalam rangka meningkatkan produktivitas harus terintegrasi dalam program intensifikasi, misalnya pengelolaan air hujan dan kesuburan tanah menggunakan bahan organik, dan pengelolaan hama secara intensif. Apabila sarana irigasi dapat diusahakan, maka metodologi untuk menghitung efisiensi penggunaan air tanaman seperti yang di terapkan di Australia akan sangat sesuai untuk dimodifikasi dan dikembangkan sesuai dengan kondisi pengembangan lokal (Tennakoon and Milroy, 2003). Dengan demikian, dukungan teknologi berupa varietas tahan kekeringan atau sifat-sifat unggul lainnya harus diimbangi dengan dukungan teknologi budidaya yang efisien sehingga peningkatan produksi kapas secara signifikan dapat tercapai.

KESIMPULAN

Pengujian ketahanan terhadap kekeringan secara langsung ataupun tak langsung menggunakan simulasi PEG telah menghasilkan informasi tentang tingkat ketahanan beberapa aksesori dalam koleksi plasma nutfah kapas terhadap kekeringan. Selain itu, melalui persilangan menggunakan pendekatan metoda pengumpulan dan piramida gen dari aksesori-aksesori yang memiliki toleransi tinggi terhadap kekeringan dan yang toleran terhadap hama penghisap *A. biguttula* telah menghasilkan dua varietas baru yang telah dilepas secara resmi oleh Menteri Pertanian melalui SK Mentan No. 506/Kpts/SR.120/9/2007 dan No. 507/Kpts/SR.120/9/2007 dengan nama berturut-turut Kanesia 14 dan Kanesia 15.

Selain upaya pengembangan varietas baru kapas tahan terhadap kekeringan melalui pendekatan pemuliaan konvensional, juga terbuka peluang pemanfaatan teknologi transgenik untuk mengembangkan varietas kapas transgenik tahan kekeringan dengan melakukan transformasi gen-gen yang berkorelasi dengan ketahanan terhadap kekeringan. Beberapa gen telah ditransformasikan ke dalam beberapa tanaman antara lain arabidopsis, tembakau, tomat, padi, dan juga pada kapas, dan telah menghasilkan perbaikan ketahanan terhadap kekeringan. Pendekatan transgenik juga berpeluang untuk mengkombinasi beberapa gen penyandi sifat-sifat yang berbeda yang berasal dari spesies lain ke dalam genom kapas.

Dukungan teknologi berupa varietas tahan kekeringan atau sifat-sifat unggul lainnya harus diimbangi dengan dukungan teknologi budidaya yang efisien sehingga peningkatan produksi kapas secara signifikan dapat tercapai.

DAFTAR PUSTAKA

- Bange, M.P. , S.P. Milroy, and P. Thongbai. 2004. Growth and Yield of Cotton in Response to Waterlogging. *Field Crops Research* 88: 129–142

- Bartels, D. and R. Sunkar. 2005. Drought and Salt Tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Science* 24: 23-58.
- Basal, H., C.W. Smith, P.S. Taxton, and J.K. Hemphill. 2005. Seedling Drought Tolerance in Upland Cotton. *Crop Science* 45:766-771.
- Bohnert H.J., D.E. Nelson, and R.G. Yensen. 1995. Adaptation to Environmental Stress. *Plant Cell* 7: 1099-1111.
- Bohnert, H.J., and R. Jensen, 1996. Strategies for Engineering Water-Stress Tolerance in Plants. *Tibtech* 14, 89-97.
- Bressan, R.A. 1998. Stress Physiology. *In* L. Taiz and E. Zeiger Eds. *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc. MA. p. 725-734.
- Cellier, F., G. Conejero, J.C. BreitheR, and F. Casse. 1998. Molecular and Physiological Responses to Water Deficit in Drought-Tolerant and Drought-Sensitive Lines of Sunflower: Accumulation of Dehydrin Transcript Correlates with Tolerance. *Plant Physiology* 116(1): 319-328.
- Cousins, Y.L., B.R. Lyon, and D.J. Llewellyn. 1991. Transformation of an Australian Cotton Cultivar: Prospects for Cotton Improvement through Genetic Engineering. *Australian Journal of Plant Physiology* 18: 481-494.
- Debaeke, P. and A. Aboudrare. 2004. Adaptation of Crop Management to Water-Limited Environments. *Europ. J. Agronomy* 21: 433-446.
- Edmeades, G.O., M. Cooper, R. Lafitte, C. Zinselmeir, J.M. Ribaut, J.E. Habben, C. Loffler, and M. Benziger. 2001. Abiotic Stresses and Staple Crops. *In* J. Nosberger, H.H. Geiger, and P.C. Struik Ed. *Crop Science: Progress and Prospects*. CAB International Publ. Wellingford. p. 137-154.
- Gould, J.H. and M. Magallanes-Cedeno. 1998. Adaptation of Cotton Shoot Apex Culture to *Agrobacterium*-Mediated Transformation. *Plant Molecular Biology Reporter* 16: 1-10.
- Greenplate, J.T., J.W. Mullins, S.R. Penn, A. Dahm, B.J. Reich, J.A. Osborn, P.R. rahu, L. Ruschke, and Z.W. Shappley. 2003. Partial Characterisation of Cotton Plants Expressing Two Toxin proteins from *Bacillus thuringiensis*: relative Toxin Contribution, toxin interaction, and Resistance Management. *J. Appl. Ent.* 127: 340-347.
- Haigler, C.H., E.F. Hequet, D.R. Krieg, R.E. Strauss, B.G. Wyatt, W. Cai, T. Jaradat, N.G. Srinivas, C. Wu, and G.J. Jividen. 2000. Transgenic Cotton with Improved Fiber Micronaire, Strength, Length and Increased Fiber Weight. *In* CP. Dugger and D.A. Richter, Eds. *Proc. of the 2000 Beltwide Cotton Conference*. 4-8 January 2000.
- Ingram, J., and D. Bartels. 1996. The Molecular Basis of Dehydration Tolerance in Plants. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47: 377-403.
- Jauhar, P. P. 2006. Modern Biotechnology as an Integral Supplement to Conventional Plant Breeding: The Prospects and Challenges. *Crop Sci.* 46:1841-1859
- Kuznetsov, V.V. and N.I. Shevyakova. 1997. Stress Responses of Tobacco Cell to High Temperature and salinity. Proline Accumulation and Phosphorilation of Polypeptides. *Plant Physiology* 100: 320-326.
- Kuznetsov, V.V., V.Y. Rakitin, and V.N. Zholkevich. 1999. Effects of Preliminary Heat-Shock Treatment on Accumulation of Osmolytes and Drought Resistance in Cotton Plants during Water Deficiency. *Physiologia Plantarum* 107: 399-406.
- Larry, L.M., and E.S. Richard. 2002. Lectins and protease inhibitors as plant defenses against insects. *J. Agric. Food Chem.* 50, 6605-6611.
- Leidi E.O., M. Lo Âpez, J. Gorham, and J.C. Gutieârrez. 1999. Variation in Carbon Isotope Discrimination and Other Traits Related to Drought Tolerance in Upland Cotton Cultivars under Dryland Conditions. *Field Crops Research* 61: 109-123.
- Ludlow, M.M. and R.C. Muchow. 1990. A Critical Evaluation of Traits for

- Improving Crop Yields in Water-Limited Environments. *Adv. Agron.* 43: 107-153.
- Mardjono, R. 2005. Kapas Genjah Tahan *Amrasca biguttula* untuk Mendukung Pengembangan Kapas di Wilayah Kering. Makalah Orasi Profesor Riset. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Deptan. Bogor. p.51.
- Mitra, J. 2001. Genetics and Genetic Improvement of Drought Resistance in Crop Plants. *Current Science* 80: 758-763.
- Muller, J.E. and M.S. Whitsitt. 1996. Plant Cellular Respon to Water Deficit. *Plant growth regulation* 20: 119-124.
- Nepomuceno, A.L., D.M. Oosterhuis, and J.M. Stewart. 1998. Physiological Responses of Cotton Leaves and Roots to Water Deficit Induced by Polyethylene Glycol. *Environmental and Experimental Botany* 40: 29-41.
- Pei, Z.W., M. Ghassemian, C.M. Kwak, P. Mccourt, and P. Schroder Jr. 1998. Role of Famesyltransferase in ABA Regulation of Guard Cell Anion Channels and Plant Water Loss. *Science* 282: 287-290.
- Pettigrew, W. T. 2004. Physiological Consequences of Moisture Deficit Stress in Cotton. *Crop Sci.* 44:1265-1272
- Riajaya, P.R. 2002. Kajian Iklim pada Tanaman Kapas. Monograf Balittas No. 7. p. 88-87.
- Sangakkara, U.R. 2001. Plant Stress Factors: Their Impact on Productivity of Cropping Systems. *In* J. Nosberger, H.H. Geiger, and P.C. Struik Ed. *Crop Science: Progress and Prospects*. CAB International Publ. Wellingford. P. 101-117.
- Saranga, Y., C-X. Jiang, R.J. Wright, D. Yakir, and A.H. Paterson. 2004. Genetic Dissection of Cotton Physiological responses to Arid Conditions and Their Inter-Relationship with Productivity. *Plant, Cell and Environment* 27: 263-277.
- Song, X., Y. Gu and G. Qin. 2007. Application of a Transformation Method via the Pollen-Tube Pathway in Agriculture Molecular Breeding. *Life Science Journal* 4(1):77-79.
- Su-Lian L., L. Lian, P. Tao, Z. Li, K. Zhang and J. Zhang. 2009. Overexpression of *Thellungiella Halophila* H⁺-Ppase (*Tsvp*) in Cotton Enhances Drought Stress Resistance of Plants. *Planta* 229: 899-910.
- Sulistiyowati, E., S. Sumartini, dan S. Rustini. 2008. Evaluasi Ketahanan Terhadap Cekaman Kekeringan Menggunakan Simulasi PEG-6000 pada Tanaman Kapas Muda. *Agrotek* 16(5): 756-762.
- Sumartini, S., Abdurrahman, dan E. Sulistiyowati. 2008. Galur-Galur Harapan Kapas di Lahan Tadah Hujan. *Jurnal Littri* 14: 87-94.
- Tennakoon, S.B. and S.P. Milroy. 2003. Crop Water Use and Water Use Efficiency on Irrigated Cotton Farms in Australia. *Agricultural Water Management* 61 (2003) 179-194.
- Turner, N.C., G.C. Wright, and K.H.M. Shidique. 2001. Adaptation of Grain Legumes (Pulses) to Water-Limited Environments. *Advances in Agronomy* 71: 193-231.
- Turner, N.C. 2003. Drought Resistance: A Comparison of Two Research Frameworks. *In* N.P. Saxena Ed. *Management of Agricultural Drought*. FAO-ICRISAT. India. p. 89-102
- Ulloa M., R.G. Cantrell, R.G. Percy, E. Zeiger and Z. Lu. 2000. QTL Analysis of Stomatal Conductance and Relationship to Lint Yield in an Interspecific Cotton. *Journal of Cotton Science* 4:10-18.
- Voloudakis, A.E., S.A. Kosmas, S. Tsakas, E. Eliopoulos, M. Loukas, and K. Kosmidou. 2002. Expression of Drought-Related Genes and Physiological Response of Greek Cotton Varieties. *Functional Plant Biology* 29: 1237-1245.
- Yamaguchi—Shinozaki, K. and K. Shinozaki. 2006. Transcriptional Regulatory Networks in Cellular Responses and Tolerance to dehydration and Cold Tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 57: 781-803.

Zafar, Y., S. Mansour, S. Asad, M. Rahman, Z. Mukhtar, M. Asif, A. Bashir, and K.A. Malik. 2007. Current Status and Prospect of Biotech Cotton in Pakistan.

Proc. of the Consultation on Genetically Modified Cotton for Risk Assessment and Opportunity for Small-Scale Cotton Growers. p. 87-93..