

Gen dan QTL Pengendali Toleransi Tanaman terhadap Keracunan Aluminium dan Aplikasinya untuk Pemuliaan Tanaman di Indonesia

(Genes and QTLs Controlling Aluminum Toxicity Tolerance in Crop Plants and Their Applications for Plant Breeding in Indonesia)

I Made Tasma

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; E-mail: imade.tasma@gmail.com

Diajukan: 2 Juli 2015; Direvisi: 25 Agustus 2015; Diterima: 28 Oktober 2015

ABSTRACT

Genetic knowledge of loci controlling Al toxicity tolerance is the key for a successful breeding program in developing Al tolerant cultivars. Tolerance level of crop plants to Al toxicity is genetically controlled. The gene inheritance pattern is mainly resulted from intensive studies of cereal crops, such as wheat, sorghum, maize, and rice. The trait can be controlled by a single dominant gene, a single dominant gene with many alleles, a pair of dominant genes, or by many genes (QTL). The majority of the Al tolerance genes identified so far belongs to two independent groups of gene families, i.e. aluminum-activated malate transporter (ALMT) and multidrug and toxic compound extrusion (MATE), both encoding transport proteins involved in Al-activated organic acid release, mainly citrate and malate. The variations in Al toxicity tolerance phenotypes are strongly correlated with the expressions of such genes in the root apical cells. Many Al tolerance QTLs have been mapped in the genomes of various crop species and were found to be colocated with the ALMT and MATE genes. The genetic maps of the Al tolerance genes and QTLs facilitate breeding programs for developing Al-tolerant cultivars through marker-assisted breeding methods. Al tolerance genes that have been isolated from genetically unrelated species can be used in genetic transformation studies of crop genotypes sexually incompatible to the gene source genotypes. The application of these molecular breeding methods expedites breeding programs to develop crop cultivars tolerance to Al toxicity and acid soils. Genomic technologies by using next-generation sequencing and high-throughput genotyping system accelerate Al toxicity tolerance gene and QTL discoveries of various crop species. The modern genomic technologies also facilitate more comprehensive PGR characterization and utilization to accelerate identification and isolation of the Al tolerance genes and QTLs to be used in a more comprehensive breeding program to support national food self sufficiency and food security programs.

Keywords: Aluminum toxicity, acid soil, gene inheritance pattern, Al tolerance gene and QTL.

ABSTRAK

Toleransi tanaman budi daya terhadap keracunan Al dikendalikan secara genetis dengan tingkat toleransi bervariasi antarspesies tanaman. Pola pewarisan gen toleransi Al hasil studi intensif pada sereal, seperti gandum, sorgum, jagung, dan padi, menunjukkan bahwa karakter ini dapat dikendalikan oleh gen dominan tunggal, gen tunggal dengan banyak alel, dua pasang gen dominan, atau multipel gen (QTL). Mayoritas gen toleransi Al yang telah diidentifikasi berasal dari dua kelompok famili gen berbeda, yaitu *aluminum-activated malate transporter* (ALMT) dan *multidrug and toxic compound extrusion* (MATE) yang mengode protein transpor (*transport protein*) yang terlibat dalam pelepasan asam-asam organik pada ujung akar, terutama asam sitrat dan asam malat. Ekspresi gen-gen ini diaktivasi oleh ion Al^{3+} . Variasi toleransi keracunan Al berkorelasi kuat dengan ekspresi gen-gen ini pada sel di ujung akar. Banyak QTL yang telah dipetakan pada berbagai spesies tanaman ternyata juga terletak pada genom yang berlokasi sama dengan posisi famili gen tersebut. Teknologi genomika menggunakan *next-generation sequencing* dan *high-throughput genotyping* mempercepat penemuan gen dan QTL toleransi Al pada berbagai spesies tanaman. Teknologi genomika modern mampu mengarakterisasi dan memanfaatkan keragaman SDG tanaman lebih komprehensif untuk mempercepat identifikasi dan isolasi gen dan QTL toleransi Al. Gen-gen ALMT dan MATE yang telah diisolasi dan gen hasil identifikasi genomika modern ditransformasikan ke dalam genom tanaman yang tidak berkerabat melalui teknik rekayasa genetika sehingga sulitnya introgresi gen melalui persilangan dapat teratasi. Peta gen dan QTL toleransi Al memfasilitasi percepatan pemuliaan tanaman toleran Al menggunakan teknik pemuliaan berbantuan marka. Aplikasi teknologi pemuliaan molekuler dapat mengakselerasi program pemuliaan tanaman toleran Al untuk mendukung program swasembada dan ketahanan pangan nasional.

Kata kunci: Keracunan aluminium, lahan masam, pola pewarisan gen, gen dan QTL toleransi Al.

PENDAHULUAN

Lahan masam di Indonesia, yang umumnya didominasi oleh tanah Podsolik Merah Kuning, mencapai luas 101,2 juta ha yang menyebar di seluruh Indonesia, terutama di Pulau Kalimantan, Sulawesi, Sumatera, Maluku, dan Papua (Notohadiprawiro, 1983). Pergeseran lahan pertanian ke luar Pulau Jawa, sebagai akibat pertambahan jumlah penduduk dan alih fungsi lahan pertanian di Jawa untuk non pertanian, menghadapi kendala keracunan aluminium (Al) pada lahan masam.

Pada tanah dengan pH <5,5, logam Al pada umumnya berada dalam bentuk Al^{3+} yang mendominasi sekitar perakaran tanaman/rizosfer dan sangat beracun bagi akar tanaman yang peka (Delhaize dan Ryan, 1995). Pertumbuhan akar tanaman menjadi terhambat sehingga pertumbuhan tanaman menurun yang menyebabkan merosotnya hasil dan kualitas hasil (Horst *et al.*, 2010; Kochian, 1995).

Pengapuran (*liming*) umum dilakukan untuk mengatasi masalah keracunan Al pada lahan masam (Kochian *et al.*, 2005; Spehar, 1995). Perbaikan sifat tanah masam melalui peningkatan pH tanah dengan pengapuran pada lapisan olah (*topsoil*) dan ameliorasi dengan gipsium pada lapisan bawah (*subsoil*), disertai pengayaan tanah dengan hara makro, yaitu nitrogen (N), fosfor (P), potasium (K), dan magnesium (Mg), telah dilaporkan berhasil memperbaiki tanah masam sabana di Brasil (Spehar, 1995). Namun, metode ini dinilai kurang ekonomis untuk diaplikasikan di Indonesia dalam rangka eksploitasi tanah masam, terutama yang tersedia luas di Sumatera dan Kalimantan, menjadi tanah yang sehat dan subur. Aplikasi metode ini juga dipandang kurang praktis, tidak berkelanjutan (*nonsustainable*), dan pada lahan tertentu pengapuran dapat merusak struktur tanah (Kochian *et al.*, 2004; Rao *et al.*, 1993).

Alternatif menarik dan dianggap sebagai metode terbaik dengan biaya relatif murah adalah penyediaan materi genetik yang toleran terhadap keracunan Al melalui seleksi keragaman genetik spesies tanaman, diikuti dengan perakitan varietas unggul toleran Al. Pengetahuan genetika pada lokus (gen dan *quantitative trait loci* [QTL]) pengendali toleransi tanaman terhadap keracunan Al merupakan kunci keberhasilan program pemuliaan tanaman.

Tulisan ini mengulas bagaimana karakter toleran Al dikendalikan pada berbagai spesies tanaman, termasuk jumlah gen pengendali karakter tersebut dan pola pewarisannya. Ulasan menekankan pada tanaman budi daya yang menjadi tanaman pertanian pen-

ting di Indonesia, di antaranya padi, jagung, kedelai, dan gandum. Bahasan juga menambahkan data hasil penelitian sereal yang belum dibudidayakan di Indonesia, seperti jelai (*barley*), gandum hitam (*rye*), dan kanola, serta tanaman model *Arabidopsis thaliana*. Selain itu, diuraikan aplikasi genomika modern menggunakan teknologi *next-generation sequencing* (NGS) dan *high-throughput genotyping* yang mempercepat identifikasi dan isolasi gen dan QTL toleransi terhadap keracunan Al dari berbagai spesies tanaman sehingga memfasilitasi pemanfaatan keragaman sumber daya genetik (SDG) tanaman dengan lebih efisien dan komprehensif. Pada bagian akhir, disajikan status terkini penelitian keracunan Al dan prospek pemuliaan toleransi Al pada tanaman budi daya prioritas di Indonesia yang didukung teknologi pemuliaan modern berbasis genomika.

KERACUNAN ALUMINIUM PADA TANAMAN DI LAHAN MASAM

Tanah masam hampir selalu berasosiasi dengan kekahatan hara dan keracunan logam Al dan Mn yang merupakan kendala utama pada sebagian besar lahan pertanian di dunia (Ma *et al.*, 2001). Kebanyakan tanah di daerah tropis adalah tanah masam karena tanah tersebut mengalami proses perubahan iklim selama jutaan tahun (*weathering*). Air hujan menyebabkan hara terlarut, seperti kalsium (Ca), Mg, dan K, tercuci dari permukaan tanah/lapisan olah ke lapisan bawah dan secara bertahap digantikan oleh Al, mangan (Mn), dan hidrogen (H), yang selalu berasosiasi dengan tanah masam (Kochian *et al.*, 2004).

Aluminium merupakan elemen paling dominan dalam tanah, namun tidak esensial bagi tanaman. Pada pH normal, Al berada dalam bentuk tidak terlarut sehingga tidak membahayakan pertumbuhan akar tanaman. Kelarutannya sangat rendah pada tanah normal (pH tanah mendekati netral) dan tanah basa (alkalin) sehingga konsentrasinya terlalu rendah untuk dapat meracuni akar tanaman. Pada kondisi asam, Al dilepas dari tanah dalam bentuk ion, seperti $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$, dan Al^{3+} (Kinraide *et al.*, 2001). Ion Al terlarut (Al^{3+}) sangat beracun terhadap semua sel hidup. Meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah (mikromolar), Al dalam bentuk terlarut dengan cepat dapat menghambat pertumbuhan akar pada banyak spesies tanaman. Ion Al^{3+} dengan cepat menginvasi banyak bagian penting sel, termasuk dinding sel dan plasma membran, menghambat perpanjangan akar melalui pencegahan pembelahan sel akar, dan pada kondisi berat, menyebabkan kerusakan ujung akar (*root apices*) (Gambar 1). Akibat-

nya, penetrasi akar ke dalam tanah menurun, produktivitas tanaman juga menurun secara drastis (Wissuwa, 2005; Wissuwa *et al.*, 2001).

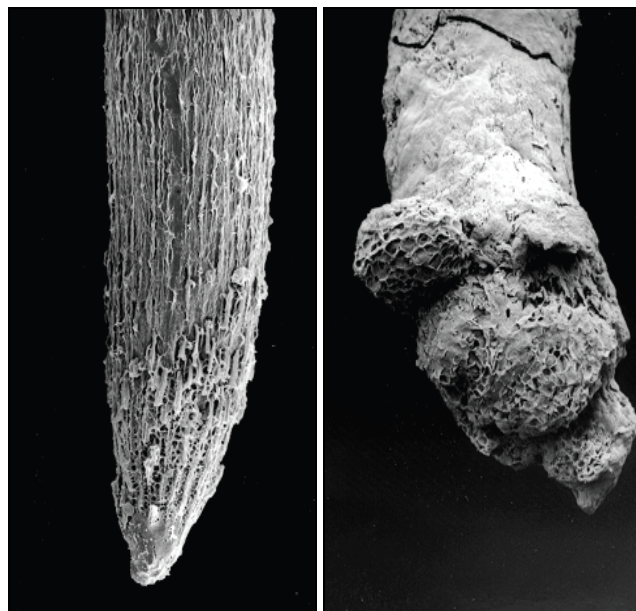
Respons tanaman yang peka terhadap cekaman keracunan Al, antara lain berupa akar menjadi pendek dan rapuh, cabang-cabang akar halus (*fine root branching*) pada akar lateral berkurang, ujung akar dan akar lateral menebal dan berubah warna menjadi cokelat (Gambar 1). Akar yang mengalami kerusakan seperti itu menjadi tidak efisien dalam penyerapan hara dan air dari dalam tanah. Sebagai akibatnya, tanaman menjadi peka terhadap berbagai cekaman lingkungan, kekeringan khususnya.

Selain memasuki sel-sel akar, terutama bagian ujung akar, sebagian ion Al^{3+} bereaksi dengan P terlarut di dalam tanah menyebabkan P yang tersedia bagi tanaman membentuk senyawa kompleks dengan Al dan P dalam bentuk tidak terlarut sehingga menjadi tidak tersedia bagi tanaman. Pengikatan P oleh Al menyebabkan gejala kekahatan P pada tanaman yang ditumbuhkan pada tanah masam, walaupun sebelumnya tanah tersebut telah dipupuk P dengan dosis yang cukup (Kochian *et al.*, 2004).

Permasalahan umum lain yang sering dijumpai pada pertanaman di lahan masam selain keracunan

Al adalah kekahatan hara, seperti N, P, K, Ca, Mg, dan Mo, serta kekurangaktifan mikroba tanah. Keracunan Al dan kekahatan hara ini menyebabkan penurunan produktivitas tanaman. Kombinasi keracunan Al dan Mn ditambah dengan kurang tersedianya hara makro P, Ca, K, dan Mg menurunkan kesuburan tanah dan produktivitas tanaman. Produktivitas potensial tanaman pada tanah masam diestimasi berada pada kisaran 25% sampai dengan 80% dibanding dengan produktivitas tanaman yang ditumbuhkan pada tanah normal (Ma *et al.*, 2001; Sharma dan Singh, 2002).

Perbaikan pH tanah dapat dilakukan dengan aplikasi pengapuran. Namun, ketika pengapuran dilakukan pada permukaan tanah untuk mengurangi pengaruh keracunan Al pada tanah masam, keracunan Al pada tanah lapisan bawah belum terpecahkan. Pertumbuhan akar pada lapisan olah terhambat yang mengakibatkan terhambatnya penyerapan hara dan serapan air oleh akar pada tanah lapisan bawah. Sebagai konsekuensi keracunan Al pada lapisan tanah yang lebih dalam, tanaman menjadi peka terhadap kekurangan air, walaupun areal pertanian tersebut telah dilengkapi dengan sistem pengairan yang baik (Spehar dan Galwey, 1996).



Gambar 1. Elektron mikrograf pengaruh keracunan aluminium (Al^{3+}) terhadap perkembangan akar tanaman gandum (Delhaize dan Ryan, 1995). Akar dua genotipe gandum dengan toleransi berbeda terhadap Al^{3+} yang dikendalikan oleh lokus mayor tunggal (*single major locus*) berumur 4 hari diperlakukan dengan AlCl_3 5 μM . Genotipe toleran (ET8, panel kiri) tidak terpengaruh oleh perlakuan Al^{3+} , sedangkan genotipe peka (ES8, panel kanan) menunjukkan kerusakan nyata pada jaringan akar. Toleransi terhadap Al^{3+} pada ET8 dikendalikan oleh gen *TaAMLT* yang mengode *Al³⁺-activated anion channel* yang memfasilitasi ekskresi asam organik malat pada bagian ujung akar (*root apices*).

MEKANISME TOLERANSI TANAMAN TERHADAP KERACUNAN AL

Tanaman memiliki mekanisme yang berbeda dalam menetralisasi pengaruh keracunan yang disebabkan oleh ion Al^{3+} . Studi dasar genetika dan fisiologi toleransi tanaman terhadap keracunan Al telah dipelajari pada berbagai spesies tanaman, baik tanaman budi daya maupun tanaman model. Mekanisme toleransi Al pada dasarnya diklasifikasikan menjadi dua kelompok, yaitu (1) mekanisme apoplastik (*apoplastic mechanism*), yaitu pencegahan (*exclusion*) ion Al^{3+} memasuki sel apikal akar (*root apical cells*) yang berada dekat ujung akar; (2) mekanisme simplastik (*symplastic mechanism*), yaitu penetralan atau penghilangan efek racun ion Al^{3+} yang telah memasuki sel apikal akar (*detoxification of internal Al*) (Kochian *et al.*, 2004).

Saat ini, hanya mekanisme apoplastik yang telah didukung bukti ilmiah yang cukup sehingga mekanisme ini dipercaya benar adanya dan merupakan mekanisme dominan yang ditemukan dan yang menentukan reaksi keracunan Al pada tanaman. Pada mekanisme ini, tanaman toleran terhadap keracunan Al mencegah ion Al^{3+} memasuki sel apikal akar (*exclusion*) melalui pelepasan asam-asam organik dari ujung akar segera setelah terpapar ion Al^{3+} . Asam-asam organik ini mengelat ion Al^{3+} dan membentuk senyawa kompleks Al dan asam organik yang menetralkan sifat toksik ion Al^{3+} (Ma *et al.*, 2001; Ryan *et al.*, 2011). Asam-asam organik yang dilepaskan oleh ujung akar berbeda antarspesies tanaman toleran, terdiri atas asam malat, asam sitrat, dan asam oksalat. Dari asam-asam organik tersebut, asam sitrat memiliki afinitas pengikatan ion Al^{3+} terbesar diikuti oleh asam oksalat, asam malat, dan asam suksinat (Hue *et al.*, 1986).

Genotipe-genotipe toleran Al, seperti pada gandum, jagung, kedelai, kacang buncis, dan bunga matahari, menggunakan mekanisme apoplastik (Ma *et al.*, 2001; Ryan *et al.*, 2011; Watanabe dan Osaki, 2002). Pada genotipe tanaman gandum toleran Al, ekskresi senyawa-senyawa organik ini berlangsung sangat cepat begitu akar terpapar ion Al^{3+} (Ryan *et al.*, 2011). Reaksi yang lebih lambat ditemukan pada spesies tanaman toleran lainnya karena perlu adanya induksi gen dan sintesis protein sebelum asam organik diekskresikan ke rizosfer (Ma *et al.*, 2001; Ryan *et al.*, 2011).

Mekanisme simplastik belum banyak didukung data ilmiah yang memadai. Pada mekanisme ini, ion Al^{3+} yang telah memasuki sitoplasma dengan cepat didetoksifikasi di dalam sel dengan terbentuknya

senyawa kompleks dengan asam-asam organik (Kochian, 1995; Kochian *et al.*, 2004). Asam-asam organik yang membentuk senyawa kompleks dengan Al pada mekanisme apoplastik juga terlibat pada mekanisme simplastik (Ma *et al.*, 2001). Ion Al^{3+} atau senyawa kompleks Al dan agen pengelat kemudian ditransportasi dan disimpan di dalam sel-sel vakuola sehingga sel-sel apikal akar akan terhindar dari efek keracunan Al (Kochian *et al.*, 2005).

Mekanisme toleransi keracunan Al pada spesies tertentu terjadi secara tunggal atau kombinasi kedua mekanisme di atas. Hasil studi pada padi, kombinasi kedua mekanisme, yaitu eksudat asam sitrat (Yokosho *et al.*, 2010) dan mekanisme simplastik, berkontribusi terhadap reaksi toleran Al ekstrim pada spesies tanaman ini.

KENDALI GENETIK DAN GEN-GEN PENGENDALI KARAKTER TOLERANSI TANAMAN TERHADAP KERACUNAN AL

Kendali Genetik Toleransi Tanaman terhadap Keracunan Al

Hasil studi 22 spesies yang meliputi lebih dari 7 famili tanaman menunjukkan bahwa respons beberapa spesies atau genotipe dalam spesies terhadap keracunan Al bervariasi (Wang *et al.*, 2007). Terdapat variasi respons yang lebar antarspesies tanaman dalam menoleransi keracunan Al. Padi, sebagai contoh, 610 kali lebih toleran terhadap keracunan Al dibanding dengan sereal lain. Setelah padi, tingkat toleransi sereal terhadap keracunan Al berturut-turut dari yang lebih toleran ke yang lebih peka, yaitu gandum hitam, *triticale* (hibrida gandum dan gandum hitam), jagung, gandum, dan jelai (Wang *et al.*, 2007).

Karakter toleransi tanaman terhadap keracunan Al dikendalikan secara genetis (Reid, 1971) yang memungkinkan dilakukannya seleksi untuk mendapatkan genotipe dengan level toleransi Al yang lebih baik. Studi genetika klasik menggunakan populasi segregasi pada tanaman budi daya dan model menunjukkan bahwa karakter toleransi tanaman terhadap keracunan Al dikendalikan oleh gen tunggal dominan, gen tunggal dengan banyak alel, dua gen dominan, ataupun oleh banyak gen (poligenik) dengan pola pewarisan yang lebih kompleks (Tabel 1) (Kochian *et al.*, 2005; Wheeler, 1992).

Analisis variasi alami (*natural variation*) terhadap koleksi SDG berbagai spesies tanaman menghasilkan gen-gen pengendali toleransi terhadap keracunan Al. Studi genetika selama lebih dari 30 tahun yang umumnya dilakukan pada sereal, seperti gan-

dum, sorgum, gandum hitam, padi, dan jagung, menunjukkan bahwa toleransi tanaman terhadap keracunan Al dikendalikan oleh multipel gen (poligenik) (Riede dan Anderson, 1996). Namun demikian, satu atau dua gen dapat menjelaskan kebanyakan variasi fenotipe (*phenotypic variance*) toleransi tanaman terhadap keracunan Al pada beberapa populasi persilangan (Raman *et al.*, 2003; Riede dan Anderson, 1996; Wang *et al.*, 2007). Gen-gen lainnya merupakan gen minor yang memberikan efek tambahan dan pengaruhnya sangat kecil dalam penentuan keragaan fenotipe toleran Al atau dikenal juga dengan istilah gen pemodifikasi (*modifier genes*) (Wang *et al.*, 2007). Sedikitnya empat belas gen dan beberapa kandidat gen lain terkait toleransi Al telah diidentifikasi dari tujuh spesies tanaman, terutama serealia, dan diketahui berkontribusi terhadap toleransi tanaman terhadap keracunan Al (Riede dan Anderson, 1996; Singh *et al.*, 2011). Sebagian besar gen tersebut menentukan variasi genetik karena gen-gen tersebut diidentifikasi berdasarkan populasi bersegregasi, sedangkan sebagian kecil gen lainnya diidentifikasi berdasarkan analisis mutan.

Pola Pewarisan Gen Toleransi Tanaman terhadap Keracunan Al

Pada padi, dilaporkan terdapat dua sistem gen pengendali karakter toleransi terhadap keracunan Al (Tabel 1). Sistem yang pertama adalah karakter tersebut dikendalikan oleh banyak gen (*complex multigene system*), dan yang kedua, karakter dikendalikan oleh gen tunggal (*monogenically controlled*) dengan sifat toleran dikendalikan oleh alel dominan (Ferreira *et al.*, 1999).

Pada gandum, karakter toleran Al dikendalikan oleh gen dominan tunggal (Kerridge dan Kronstad,

1968). Namun demikian, Aniol (1991) melaporkan bahwa karakter tersebut dikendalikan oleh dua pasang gen, setiap pasang gen mengendalikan karakter yang sama dengan alel dominan yang memberikan fenotipe toleran Al. Namun, jika gen berada dalam kondisi homozigot resesif, gen ini epistatis terhadap pengaruh gen lainnya. Hasil penelitian Aniol (1991) konsisten dengan laporan Campbell dan Lafever (1981) yang menunjukkan bahwa karakter toleran Al pada gandum tidak diturunkan secara sederhana dan karakter ini adalah aditif dengan heritabilitas tinggi.

Pada jagung, karakter toleran Al dikendalikan oleh gen tunggal dengan banyak alel (*multiple alleles*) (Kochian *et al.*, 2005; Magnavaca *et al.*, 1987). Namun, laporan Sibov *et al.* (1999) menunjukkan bahwa toleransi Al pada jagung dikendalikan oleh dua gen mayor, *Alm1* dan *Alm2*, berturut-turut terletak pada kromosom 10 dan kromosom 6 pada genom jagung. Pada penelitian berikutnya, diketahui bahwa protein *Alm2* dikode oleh gen mayor toleransi Al *ZmMATE1* (Maron *et al.*, 2009) sehingga gen *Alm2* identik dengan gen *ZmMATE1*.

Pada jelai, karakter toleran Al dikendalikan oleh gen dominan tunggal (*single dominant gene*), *Pht* atau *Alp*, yang terletak pada kromosom 4 pada genomnya (Minella dan Sorrells, 1997; Stolon dan Andersen, 1978). Pada gandum hitam, toleransi Al dikendalikan oleh empat gen dominan yang independen (*Alt1*, *Alt2*, *Alt3*, dan *Alt4*) yang lokasinya berturut-turut pada kromosom 6RS, 3RS, 4RL, dan 7RS (Gallego *et al.*, 1998; Miftahudin *et al.*, 2002). Dilaporkan juga bahwa karakter toleran Al pada gandum hitam kemungkinan juga dikendalikan oleh banyak gen (poligenik).

Tabel 1. Jumlah gen pengendali karakter toleransi tanaman terhadap keracunan Al pada berbagai spesies berdasarkan hasil studi genetika klasik.

Tanaman	Spesies	Jumlah gen pengendali toleransi Al	Referensi
Padi	<i>Oryza sativa</i>	Monogenik	Ferreira <i>et al.</i> (1999)
Jagung	<i>Zea mays</i>	Poligenik	Khatiwada <i>et al.</i> (1996); Nguyen <i>et al.</i> (2001)
Gandum	<i>Triticum aestivum</i>	Monogenik	Rhue <i>et al.</i> (1978)
Kedelai	<i>Glycine max</i>	Poligenik	Pandey <i>et al.</i> (1994)
Kacang polong (<i>pea</i>)	<i>Pisum sativum</i>	Monogenik	Riede dan Anderson (1996); Somers dan Gustafson (1995)
Kacang buncis	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Poligenik	Bianchi Hall <i>et al.</i> (1998)
Kacang gude	<i>Cajanus cajan</i>	Monogenik	Singh dan Choudhary (2010)
Kacang arab (<i>chickpea</i>)	<i>Cicer arietinum</i>	Poligenik	Araujo <i>et al.</i> (1992)
Jelai	<i>Havena vulgare</i>	Monogenik	Singh dan Raje (2011)
<i>Arabidopsis</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Poligenik	Carver dan Ownby (1995)
			Minella dan Sorrells (1992)
			Hoekenga <i>et al.</i> (2003)

Gen Pengendali Toleransi Tanaman terhadap Keracunan Al

Mayoritas gen-gen toleran terhadap keracunan Al berasal dari dua kelompok famili gen yang berbeda dan tidak terkait satu dengan lainnya (*independent genes*). Kedua famili gen mengode protein transpor (*transport proteins*) yang terlibat dalam pelepasan asam-asam organik yang diaktivasi ion Al^{3+} (*Al-activated organic acid release*), terutama asam sitrat dan asam malat, yaitu *aluminum-activated malate transporter* (ALMT) dan *multidrug and toxic compound extrusion* (MATE). Fungsi protein dari famili gen MATE dan ALMT masing-masing adalah sebagai pengangkut asam sitrat (*citrate transporter*) dan pengangkut asam malat (*malate transporter*) (Tabel 2). Variasi toleransi terhadap keracunan Al spesies tanaman berkorelasi kuat dengan ekspresi gen-gen ini pada sel apikal akar.

Di samping dua famili gen di atas, terdapat kelompok gen lain yang sering ada kaitannya dengan keracunan Al pada tanaman, antara lain famili gen pengangkut *ATP-binding cassette* (*ABC transporter family*) dan famili gen *natural resistance-associated macrophage protein* (*Nramp gene family*). Dua gen pengode *ABC transporter*, *ALS3*, dan *ALS1*, telah lama diketahui berkaitan dengan toleransi Al pada *A. thaliana* (Larsen *et al.*, 2005). Gen *Nramp1* dilaporkan berkaitan erat dengan karakter toleran Al pada padi dan ekspresinya dominan di akar (Xia *et al.*, 2010).

Pada kedelai, telah diisolasi gen seri Sali, antara lain Sali 5–4a (nomor akses: U64866) dan Sali 3–2 (nomor akses: U89693), yang diinduksi oleh ion Al^{3+} pada akarnya. Gen seri Sali ini potensial digunakan dalam pemuliaan untuk pembentukan tanaman kedelai toleran Al.

Pemetaan Gen dan QTL Pengendali Toleransi Tanaman terhadap Keracunan Al

Pemetaan QTL pengendali toleransi tanaman terhadap keracunan Al pada berbagai populasi persilangan spesies tanaman penting menggunakan tipe

marka berbeda menghasilkan QTL mayor dan minor yang berkontribusi terhadap fenotipenya (Tabel 3). Semua studi QTL ini mengukur pertumbuhan akar pada larutan yang mengandung ion Al^{3+} yang sangat beracun bagi akar tanaman.

Karakter toleran Al dikendalikan oleh mekanisme berbeda pada spesies tanaman berbeda. Pada gandum, jelai, dan gandum hitam, karakter ini dikendalikan oleh gen tunggal, sedangkan pada kebanyakan spesies lainnya, seperti padi, jagung, dan kedelai, toleransi Al dikendalikan oleh QTL yang dikendalikan oleh beberapa hingga banyak gen (Tabel 3).

QTL yang dideteksi tersebut umumnya berupa QTL mayor dengan kontribusi varian fenotipe yang dapat dijelaskan (PVE) berada di atas 20%. Dengan QTL mayor berarti terdapat gen-gen mayor, gen dengan efek besar terhadap keragaan fenotipe toleran Al, yang mengendalikan QTL mayor tersebut. Banyak di antara QTL mayor tersebut lokasinya bertepatan (*colocalized*) pada peta genom dengan lokasi gen toleransi Al dari famili gen ALMT atau MATE.

Marka molekuler terpaut dengan gen atau QTL pengendali karakter toleran Al dapat digunakan untuk seleksi tanaman pembawa karakter dan mentransfer gen toleransi Al ke genotipe lain melalui seleksi berbantuan marka (*marker-assisted selection/MAS*) dan pemuliaan berbantuan marka (*marker-assisted breeding*). Ditemukannya QTL atau gen mayor tersebut memudahkan pemulia tanaman untuk mentransfer QTL atau gen target ke dalam genom individu tanaman yang menjadi target peningkatan toleransi terhadap keracunan Al pada proses pemuliaan tanaman toleran Al.

APLIKASI GEN DAN QTL TOLERANSI TERHADAP KERACUNAN AL UNTUK PROGRAM PEMULIAAN TANAMAN PRIORITAS NASIONAL TOLERAN AL

Dengan berkembangnya teknologi genomika, teknologi sel dan jaringan, serta transformasi genetik tanaman, pemuliaan tanaman toleran Al ke depan lebih memanfaatkan teknologi pemuliaan berbantu-

Tabel 2. Gen-gen pengangkut asam organik (*organic acid transporter*) dari famili gen ALMT dan MATE yang ekspresinya diinduksi oleh ion Al^{3+} yang telah diidentifikasi dan gennya telah diklon dari beberapa spesies tanaman.

Spesies	Gen	Fungsi protein	Referensi
Gandum	<i>TaALMT1</i>	Pengangkut asam malat	Sasaki <i>et al.</i> (2004)
Sorgum	<i>SbMATE</i>	Pengangkut asam sitrat	Magalhaes <i>et al.</i> (2007)
Rapa (<i>Brassica napus</i>)	<i>BnALMT1</i>	Pengangkut asam malat	Ligaba <i>et al.</i> (2006)
	<i>BnALMT2</i>	Pengangkut asam malat	Ligaba <i>et al.</i> (2006)
Gandum hitam	<i>ScMATE2</i>	Pengangkut asam sitrat	Yokosho <i>et al.</i> (2010)
<i>Arabidopsis</i>	<i>AtALMT1</i>	Pengangkut asam malat	Hoekenga <i>et al.</i> (2003)

Tabel 3. Gen mayor dan *quantitative trait loci* (QTL) toleransi tanaman terhadap keracunan Al yang dipetakan menggunakan marka molekuler pada genom berbagai spesies tanaman.

Tanaman	Populasi dan tipe marka pemetaan	Gen/QTL	Nama gen/QTL dan lokasinya pada kromosom*	Kontribusi varian fenotipe** (%)	Kontrol genetik gen/QTL toleransi Al yang dipetakan	Referensi
Padi	159 F ₉ RILs (AFLP, RFLP)	QTL	QTLs 2 minggu		Aditif	Wu <i>et al.</i> (2000)
			(1)	19,0		
			(3)	9,0		
			(12)	10,0		
			QTLs 4 minggu			
			(1)	15,0		
	146 galur haploid ganda (RFLP, AFLP, SSR)	QTL	(9)	9,0	Epistasis	Nguyen <i>et al.</i> (2002)
			(12)	20,0		
			qALRR-1-1	24,1		
			qALRR-1-2	18,5		
			qALRR-2	13,4		
			qALRR-3	12,8		
			qALRR-4	20,1		
			qALRR-7	10,3		
			qALRR-8	28,7		
			qALRR-9	19,3		
			qALRR-10	17,7		
			qALRR-12	19,7		
	183 galur silang balik (RFLP)	QTL	QTL (1)	11,1	Aditif	Ma <i>et al.</i> (2002)
			QTL (2)	7,3		
			QTL (6)	8,7		
	171 F ₆ RILs (RFLP, SSR)	QTL	QAIRr1.1 (1)	9,0	Aditif	Nguyen <i>et al.</i> (2003)
			QAIRr3.1 (3)	24,9		
			QAIRr7.1 (7)	22,5		
			QAIRr8.1 (8)	20,8		
			QAIRr9.1 (9)	9,9		
	71 F ₇ RILs	QTL	QTL (1)		Aditif	Xue <i>et al.</i> (2006)
			QTL (9)			
			QTL (11)			
Jagung	56 galur inbred (RFLP)	Gen	<i>Alm1</i> (10S)	24,2	Dominan	Sibov <i>et al.</i> (1999)
			<i>Alm2</i> (6)	7,7		
	168 F _{3,4} (RFLP, SSR)	QTL	QTL1 (2)	10,9	Dominan dan aditif	Ninamango Cardenas <i>et al.</i> (2003)
			QTL2 (6)	5,3		
			QTL3 (6)	15,6		
			QTL4 (8)	7,4		
			QTL5 (8)	8,6		
	SNP (50K)	QTL	qALT2 (2)	15,5	Dominan dan aditif	Guimaraes <i>et al.</i> (2014)
			qALT3 (3)	27,5		
			qALT5 (5)	17,6		
			qALT6 (6)	30,5		
			qALT8 (8)	10,4		
Kedelai	F ₄ (RFLP) RIL (SSR)	QTL	-	-	-	Bianchi-Hall <i>et al.</i> (1998)
		QTL	QTL1 (4)	14,0	Aditif	Sharma <i>et al.</i> (2002)
Gandum	101 F ₅ RILs (RFLP, AFLP)	Gen	<i>A/tBH</i> (4DL)	85,0	Dominan	Riede dan Anderson (1996)
	91 F ₅ RILs (RFLP, SSR, AFLP)	Gen	<i>A/tBH</i> (4DL)	Gen tunggal	Dominan	Milla dan Gustafson (2001)
Jelai	67 F ₂ (AFLP, SSR)	Gen	<i>Alt</i> (4H)	Gen mayor tunggal	Dominan	Raman <i>et al.</i> (2003)
	48 F ₂ (RFLP)	Gen	<i>Alp</i> (4H)	Gen mayor tunggal	Dominan	Tang <i>et al.</i> (2000)
Gandum hitam	F ₂ (RAPD, SCARs)	Gen	<i>Alt1</i> (6RS)	Gen tunggal	Dominan	Gallego <i>et al.</i> (1998)
	F ₆ RILs (AFLP)	Gen	<i>Alt3</i> (4RL)	Gen mayor tunggal	Dominan	Miftahudin <i>et al.</i> (2002)

*Angka dalam kurung adalah nama kromosom lokasi gen atau QTL diidentifikasi pada genom dari setiap spesies tanaman.

**Persentase ragam fenotipe (*phenotypic variance*) yang dapat dijelaskan oleh gen atau QTL teridentifikasi.

an marka molekuler dan rekayasa genetika melalui transformasi gen toleran Al ke dalam genom genotipe tanaman peka Al, tetapi mempunyai karakteristik unggul target pemuliaan. Karena teknologi marka DNA yang telah tersedia saat ini umumnya berupa hasil penelitian tanaman pangan, arah pemanfaatan marka DNA masih menekankan pada tanaman pangan, seperti padi, jagung, dan kedelai. Dengan berkembangnya teknologi genomika modern, penemuan gen toleransi terhadap keracunan Al pada kelompok tanaman lainnya, seperti tanaman perkebunan dan hortikultura, juga akan berkembang seperti halnya pada tanaman pangan.

Pemuliaan Tanaman Berbantuan Marka Molekuler (*Marker-Assisted Breeding*)

Seleksi langsung individu tanaman pada kondisi lapangan sulit dilakukan karena keragaman lokasi dan waktu observasi genotipe tanaman yang ditumbuhkan pada tanah masam kaya ion Al^{3+} (*temporal and spatial variations in aluminum toxic soils*), biayanya mahal, dan sangat menyita waktu jika jumlah genotipe tanaman yang diuji banyak. Penggunaan sistem ranking keragaan genotipe tanaman di lapangan juga sulit dilakukan.

Tersedianya marka gen dan QTL mayor pengendali toleransi Al untuk seleksi individu tanaman toleran keracunan Al mempermudah dan memper-

cepat seleksi tanaman pembawa karakter toleran Al. Hal ini memungkinkan evaluasi banyak genotipe tanaman dalam waktu yang lebih singkat. Marka gen dan QTL dengan efek besar dengan ragam fenotipe yang dapat dijelaskan oleh QTL dengan nilai di atas 20% menjadi target pemuliaan tanaman toleran Al menggunakan metode seleksi berbantuan marka. Hal ini didukung oleh tersedianya materi genetik dari koleksi SDG tanaman prioritas nasional (padi, jagung, dan kedelai) yang toleran terhadap keracunan Al (Tabel 4). Tersedianya SDG dengan level toleransi Al kontras tersebut memfasilitasi pembentukan populasi persilangan untuk pemetaan gen dan QTL toleransi Al pada komoditas target.

Pemetaan QTL toleransi terhadap keracunan Al sedang dilakukan pada beberapa spesies tanaman prioritas padi dan kedelai di Indonesia menggunakan koleksi SDG padi dan kedelai nasional (Tabel 4). Populasi permanen *recombinant inbred line* (RIL) kedelai B3462 × B3293 yang terdiri atas 210 progeni $F_{7:8}$ telah dibuat (Tasma *et al.*, 2008) (Gambar 2) untuk pemetaan QTL toleransi Al menggunakan marka SNP densitas tinggi (*SoyBARC6K SNP chip*) yang mengandung 6.000 marka SNP. Populasi tersebut sedang diuji keragaan fenotipenya di dua lokasi lahan masam dengan kondisi agroklimat yang berbeda (Cigudeg, Jawa Barat, dan KP Taman Bogo, Lampung). Populasi RIL ini juga akan diuji keragaan fenotipenya pada kondisi lingkungan lebih terkontrol

Tabel 4. Beberapa koleksi SDG padi, jagung, dan kedelai nasional yang telah diuji responsnya terhadap keracunan aluminium.

Tanaman	Genotipe	Fenotipe keracunan Al	Metode skrining toleransi terhadap keracunan Al	Referensi
Padi	Dupa	Toleran	60 ppm Al^{3+} larutan hara Yoshida	Prasetyono <i>et al.</i> (2003)
	ITA131	Peka		
	Hawara Bunar	Toleran		
	Sibau	Toleran	Uji lapangan di KP Taman Bogo, Lampung (kejenuhan Al 60%)	Budiarti <i>et al.</i> (2004)
	Melaya	Toleran		
	Padi Jawa	Toleran		
	Way Rarem	Toleran	45 ppm Al^{3+} larutan hara Yoshida	Tasliyah <i>et al.</i> (2011)
	Jatiluhur	Toleran		
	Limboto	Toleran		
	Sentani	Toleran	45 ppm Al^{3+} larutan hara Yoshida	Suhartini (2010); Tasliyah <i>et al.</i> (2011)
	K36-5-1-1	Toleran		
	NIL-C443	Toleran		
Jagung	Cabacu	Toleran	0,45–0,67 mM Al^{3+} (hidroponik)	Trijatmiko <i>et al.</i> (2014)
	IR64	Peka		
	Sukmaraga	Toleran	Uji lapangan di KP Taman Bogo, Lampung	Ma'sumah <i>et al.</i> (2015)
	Arjuna	Peka		
	G. Kretek	Toleran		
	Leha-leha	Toleran		
	Sidanak	Toleran	Uji lapangan di KP Taman Bogo, Lampung (kejenuhan Al 60%)	Budiarti <i>et al.</i> (2004)
Kedelai	Lokal Pasuruan	Toleran		
	Sibayak	Toleran	Tanah masam Jasinga (pH 4,1, kejenuhan Al 75,8%); uji pot	Tasma <i>et al.</i> (2008)
	B3462	Toleran		
	B3293	Peka		



Gambar 2. Keragaan dua genotipe kedelai yang ditumbuhkan pada tanah masam Jasinga (pH 4,1, Al-dd 15,5, dan kejenuhan Al 75,8%) di rumah kaca BB Biogen, 60 hari setelah tanam (Tasma *et al.*, 2008). A = B3462 (toleran terhadap keracunan Al), B = B3293 (peka terhadap keracunan Al).

di rumah kaca menggunakan tanah masam Jasinga dengan metode Tasma *et al.* (2008) dan menggunakan sistem hidroponik di rumah kaca dengan metode Bianchi-Hall *et al.* (1998).

Analisis asosiasi dari data *genotyping* dan *phenotyping* populasi RIL ini akan menghasilkan marka SNP yang berpautan dengan karakter toleran Al pada kedelai. Marka tersebut digunakan untuk pemuliaan tanaman kedelai toleran Al menggunakan teknik MAS.

Pada padi, pemetaan QTL toleransi terhadap keracunan Al telah dimulai menggunakan populasi RIL (terdiri atas 154 galur) turunan dari persilangan antara Cabacu (varietas padi *tropical japonica* dari Brasil yang toleran Al dan kekeringan) dan IR64 (varietas padi *indica* dari IRRI yang berpotensi hasil tinggi, namun peka terhadap kekeringan dan keracunan Al) (Ma'sumah *et al.*, 2015; Trijatmiko *et al.*, 2014). Sebanyak 201 marka SNP yang tersebar merata di 12 kromosom padi telah dipetakan menggunakan populasi RIL Cabacu $\times$ IR64 dan analisis asosiasi dengan karakter toleran kekeringan telah menghasilkan peta QTL toleransi kekeringan pada padi (Trijatmiko *et al.*, 2014). Populasi RIL Cabacu $\times$ IR64 ini sedang dievaluasi toleransinya terhadap keracunan Al di KP Taman Bogo. Analisis keterpautan antara genotipe marka SNP dan skor data fenotipe toleran Al menghasilkan peta QTL toleransi terhadap keracunan Al pada padi. Marka DNA yang berpautan dengan karak-

ter toleran Al digunakan pada program pemuliaan molekuler untuk percepatan perakitan varietas unggul baru (VUB) padi toleran Al menggunakan teknik MAS.

Pembentukan Tanaman Transgenik dengan Gen Toleransi terhadap Keracunan Al

Hasil studi pada gandum dan sorgum menunjukkan bahwa salah satu cara peningkatan toleransi tanaman terhadap keracunan Al adalah dengan meningkatkan ekspresi gen keracunan Al yang mengode pengangkut asam organik pengelat Al (*Al-chelating organic acid transporter*) dari famili gen ALMT dan MATE. Strategi yang mirip dapat dilakukan pada spesies tanaman lain, seperti padi, jagung, dan kedelai, dengan memanipulasi gen-gen sejenis melalui teknik rekayasa genetika. Akan sangat menarik apabila transformasi gen dapat dilakukan pada dua atau lebih gen toleransi Al (*Al-chelating organic acid gene pyramiding*) untuk mendapatkan tanaman dengan tingkat toleransi Al yang lebih tinggi dibanding dengan memanipulasi hanya satu gen.

Tanaman transgenik dengan overekspresi gen pengode pengangkut asam organik (*organic acid transporter*) telah banyak dipelajari setelah gen mayor *TaALMT1* pertama kali diisolasi dari genom gandum (Sasaki *et al.*, 2004). Overekspresi gen *TaALMT1* pada padi, jelai, gandum, dan *A. thaliana*, serta kultur sel tembakau, menghasilkan tanaman

transgenik dengan peningkatan sekresi asam organik malat yang diinduksi Al untuk semua tanaman yang diuji, kecuali padi (Delheize *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2010; Sasaki *et al.*, 2004). Gen homolog *TaALMT1* juga telah diisolasi dari tanaman kanola, jelai, dan gandum hitam (Tabel 2). Ekspresi gen *BnALMT1* dan *BnALMT2* pada tembakau (Ligaba *et al.*, 2006), *HvALMT1* pada jelai (Gruber *et al.*, 2011), dan *AtALMT1* pada *A. thaliana* (Ryan *et al.*, 2011) menghasilkan tanaman transgenik dengan peningkatan sekresi asam malat dan peningkatan toleransi tanaman terhadap keracunan Al. Peningkatan toleransi tanaman transgenik terhadap keracunan Al juga telah diperoleh dengan overekspresi gen pengangkut asam sitrat (*citric transporter genes*). Overekspresi gen *SbMATE1* (Magalhaes *et al.*, 2007), *ZmMATE1* pada *A. thaliana*, dan *VuMATE* pada tomat (Yang *et al.*, 2011) meningkatkan sekresi asam sitrat pada akar tanaman dan toleransi terhadap keracunan Al. Pada padi, overekspresi gen *ALMT1* dari gandum kelihatannya tidak meningkatkan toleransi terhadap keracunan Al (Sasaki *et al.*, 2004), sehingga padi diduga memiliki mekanisme toleransi yang berbeda dengan gandum dan sorgum.

Aplikasi Teknologi Genomika Modern untuk Percepatan Pemuliaan Tanaman Toleran Al pada Komoditas Pertanian Unggulan Nasional

Teknologi genomika maju menggunakan NGS dan *high-throughput genotyping* mempercepat penemuan gen dan QTL toleransi terhadap keracunan Al pada berbagai spesies tanaman unggulan nasional. Teknologi genomika modern mampu memanfaatkan kekayaan keragaman SDG tanaman secara lebih komprehensif untuk mengidentifikasi gen dan QTL toleransi Al secara lebih cepat.

Resekuensing varietas kedelai unggul Indonesia memperoleh lebih dari 2,6 juta variasi genom (SNP dan indel). Sekitar 2,15% dari SNP yang diidentifikasi berlokasi pada *exon* (*protein coding region*) (Satyawan *et al.*, 2014; Tasma *et al.*, 2015). Dari SNPs/indels yang ada pada *exon* tersebut, beberapa di antaranya mengode gen putatif (*putative genes*) terkait toleransi terhadap keracunan Al pada tanaman kedelai. Pada penelitian resekuensing varietas jagung Indonesia, ditemukan SNP/indel yang mengode gen putatif toleransi terhadap keracunan Al (Tasma *et al.*, 2014). Gen-gen putatif ini perlu diverifikasi melalui penelitian genomika fungsional (*functional genomic studies*) untuk menguji fungsi gen dan apabila terbukti, gen ini perlu diisolasi untuk mendapatkan gen toleransi terhadap keracunan Al untuk digunakan dalam pembentukan tanaman transgenik toleran Al.

Penemuan gen toleransi Al juga dapat dilakukan dengan cara yang sama, seperti yang dilakukan pada analisis genomika tanaman kedelai dan jagung, pada komoditas penting lainnya, seperti cabai merah, kentang, kakao, pisang, tebu, dan kelapa sawit.

Tingginya keragaman genetik SDG tanaman yang dimiliki Indonesia untuk tanaman-tanaman asli Indonesia, seperti padi, ubi jalar, pisang, manggis, dan durian, menjadikan potensi untuk mengidentifikasi dan mengisolasi alel-alel dan gen baru toleran Al dengan memanfaatkan teknologi genomika modern terbuka sangat lebar. Dengan demikian, genomika modern, memfasilitasi pemanfaatan SDG tanaman yang lebih komprehensif dan efisien, untuk penemuan gen-gen dan QTL unggul untuk mempercepat program pemuliaan tanaman mendukung ketahanan pangan dan energi nasional yang berkelanjutan (*sustainable*).

KESIMPULAN

Karakter toleransi tanaman terhadap keracunan Al dikendalikan secara genetis dengan level bervariasi antarspesies tanaman. Karakter ini dapat dikendalikan oleh gen tunggal dominan, dua gen dengan banyak alel, atau banyak gen (multigenik). Cukup banyak gen toleransi Al yang telah diidentifikasi dan sebagian kecil diisolasi dari hasil studi intensif pada sereal dan tanaman model *Arabidopsis*. Mayoritas gen toleransi Al tersebut berasal dari famili gen ALMT dan MATE yang mengode protein transpor yang terlibat dalam pelepasan asam-asam organik, seperti asam sitrat dan asam malat. Variasi toleransi Al berkorelasi kuat dengan ekspresi gen pada sel apikal akar. Pengembangan tanaman transgenik toleran Al menggunakan gen dari kedua famili gen tersebut telah berhasil dilakukan pada beberapa sereal, seperti gandum, jagung, dan jelai, dan *Arabidopsis*. Gen dan QTL toleransi Al dipetakan pada genom beberapa spesies tanaman yang lokasinya sering bertepatan dengan lokasi famili gen ALMT dan MATE. Gen dan QTL tersebut memfasilitasi perakitan varietas unggul toleran terhadap keracunan Al dengan menggunakan teknik MAS atau rekayasa genetika. Teknologi genomika modern menggunakan NGS dan *high-throughput genotyping* mengakselerasi penemuan gen dan QTL toleran Al pada SDG berbagai spesies tanaman untuk mendukung percepatan program pemuliaan tanaman toleran Al dalam rangka mendukung program swasembada pangan dan energi nasional yang berkelanjutan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulisan tinjauan ini didukung oleh kegiatan penelitian pemetaan genetik karakter toleransi terhadap keracunan aluminium pada kedelai dan padi yang didanai dari anggaran APBN BB Biogen, Badan Litbang Pertanian, TA 2015 dan 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Aniol, A. 1991. Genetics of acid tolerant plants. In: R.J. Wright, V.C. Baligar, and R.P. Murrmann, editors, *Proceedings of the Second International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH*, Beckley West Virginia, USA, 24–29 June 1990. Springer, the Netherlands. p. 1007–1017.
- Araujo, J.M.D., J.B.D. Santos, M.A.P. Ramalho, and G.A.A. Motos. 1992. Genetic control of the tolerance of common pea (*Phaseolus vulgaris* L.) to chemical conditions of the soil under 'cerrado' vegetation. *Cardiol. Prat.* 16:189–196.
- Bianchi-Hall, C.M., T.E. Charter, T.W. Ruffy, C. Arellano, H.R. Boerma, and D.A. Ashley. 1998. Heritability and resource allocation of aluminum tolerance derived from soybean PI 416937. *Crop Sci.* 38:513–522.
- Budiarti, S.G., T.S. Silitonga, T. Suhartini, Sutoro, Asadi, dan Hadiatmi. 2004. Evaluasi toleransi plasma nutfah padi, jagung, dan kedelai terhadap lahan bermasalah/ lahan masam (keracunan Al dan Fe) dan pemupukan rendah. Kumpulan Makalah Seminar Hasil Penelitian Tahun 2004. BB Biogen, Bogor.
- Campbell, L.G. and H.N. Lefever. 1981. Heritability of aluminum tolerance in wheat. *Cereal Res. Commun.* 9:281–287.
- Carver, B.F. and J.D. Ownby. 1995. Acid soil tolerance in wheat. *Adv. Agron.* 54:117–173.
- Delhaize, E. and P.R. Ryan. 1995. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol.* 107:315–321.
- Delhaize, E., P. Taylor, P.J. Hocking, R.J. Simpson, P.R. Ryan, and A.E. Richardson. 2009. Transgenic barley (*Hordeum vulgare* L.) expressing the wheat aluminium resistance gene (*TaALMT1*) shows enhanced phosphorus nutrition and grain production when grown on an acid soil. *Plant Biotechnol. J.* 7(5):391–400.
- Ferreira, R. de P., C.D. Cruz, C.S. Sedyama, B.S. Pinheiro, and de P. Ferreira. 1999. Inheritance of aluminum toxicity tolerance on rice based on diallelic analysis. *Pesq. Agropec. Bras.* 34:615–621.
- Gallego, F.J., B. Calles, and C. Benito. 1998. Molecular markers linked to the aluminium tolerance gene *Alt1* in rye (*Secale cereale* L.). *Theor. Appl. Genet.* 97:1104–1109.
- Gruber, B.D., E. Delhaize, and A. E. Richardson. 2011. Characterisation of *HvALMT1* function in transgenic barley plants. *Funct. Plant Biol.* 38:163–175.
- Guimaraes, C.T., C.C. Simoes, M.M. Pastina, L.G. Maron, J.V. Magalhaes, R.C.C. Vasconcellos, L.J.M. Guimaraes, U.G.P. Lana, C.F.S. Tinoco, R.W. Noda, S.N. Jardim-Belicuas, L.V. Kochian, V.M.C. Alves, and S.N. Parentoni. 2014. Genetic dissection of Al tolerance QTLs in the maize genome by high density SNP scan. *BMC Genomics* 15:153–167.
- Hoekenga, O.A., T.J. Vision, J.E. Shaff, Monforte, G.P. Lee, S.H. Howell, and L.V. Kochian. 2003. Identification and characterization of Al tolerance loci in *Arabidopsis* (Landsberg *erecta* x Columbia) by quantitative trait locus mapping. A physiologically simple but genetically complex trait. *Plant Physiol.* 132:936–948.
- Horst, W.J., Y.X. Wang, and D. Eticha. 2010. The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: A review. *Ann. Bot.* 106:185–197.
- Hue, N.V., G.R. Craddock, and F. Adams. 1986. Effect of organic acids on aluminum toxicity in subsoil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50:28–34.
- Kerridge, P.C. and W.E. Kronstad. 1968. Evidence of genetic resistance to aluminium toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L. Vill., Host). *Agron. J.* 60:710–711.
- Khatiwada, S.P., D. Senadhira, A.L. Carpena, S.R. Zeigler, and P.G. Fernandez. 1996. Variability and genetics of tolerance for aluminium toxicity in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 93:738–744.
- Kinraide, T.B. and B.K. Sweeney. 2001. Buffered, phosphate-containing media suitable for aluminum toxicity studies. *Plant Soil* 235:75–83.
- Kochian, L.V. 1995. Cellular mechanisms of aluminium toxicity and resistance in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46:237–260.
- Kochian, L.V., O.A. Hoekenga, and M.A. Piñeros. 2004. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55:459–493.
- Kochian, L.V., M.A. Piñeros, and O.A. Hoekenga. 2005. The physiology, genetics, and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity. *Plant Soil* 274:175–195.
- Larsen, P.B., M.J. Geisler, C.A. Jones, K.M. Williams, and J.D. Cancel. 2005. *ALS1* encodes a phloem-localized ABC transporter-like protein that is required for aluminum tolerance in *Arabidopsis*. *Plant J.* 41:353–363.

- Ligaba, A., M. Katsuhara, P.R. Ryan, M. Shibasaka, and H. Matsumoto. 2006. *BnALMT1* and *BnALMT2* genes from rape encode aluminum-activated malate transporters that enhance the aluminum resistance of plant cells. *Plant Physiol.* 142:1294–1303.
- Ma, J.F., P.R. Ryan, and E. Delhaize. 2001. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends Plant Sci.* 6:273–278.
- Ma, J.F., R. Shen, Z. Zhao, M. Wissuwa, Y. Takeuchi, T. Ebitani, and M. Yano. 2002. Response of rice to aluminium stress and identification of QTL for aluminium tolerance. *Plant Cell Physiol.* 43:652–659.
- Magalhaes, J.V., J. Liu, and C.T. Guimarães. 2007. A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminium tolerance in sorghum. *Nat. Genet.* 39:1156–1161.
- Magnavaca, R., C. Gardner, and R. Clark. 1987. Evaluation of inbred maize lines for aluminum tolerance in nutrient solution. In: H.W. Gabelman and B.C. Loughman, editors, *Genetic aspects of plant mineral nutrition*. Martinus Nijhoff, Dordrecht, the Netherlands. p. 255–265.
- Maron, L.G., M.A. Pineros, C.T. Guimaraes, J.V. Magalhaes, J.K. Pleiman, C. Mao, J. Shaff, S.N.J. Belicuas, and L.V. Kochian. 2009. Two functionally distinct members of the MATE (multidrug and toxic compound extrusion) family of transporters potentially underlie two major aluminum tolerance QTLs in maize. *Plant J.* 61(5):728–740.
- Ma'sumah, J. Prasetyono, dan K.R. Trijatmiko. 2015. Pemetaan genetik karakter toleransi keracunan aluminium pada padi. Laporan Akhir Penelitian APBN 2015. BB Biogen, Bogor.
- Miftahudin, G., J. Scoles, and J.P. Gustafson. 2002. AFLP markers tightly linked to aluminium tolerance gene *Alt3* in rye (*Secale cereale* L.). *Theor. Appl. Genet.* 104:626–631.
- Milla, M.A.R. and J.P. Gustafson. 2001. Genetic and physical characterization of chromosome 4DL in wheat. *Genome* 44:883–892.
- Minella, E. and M.E. Sorrells. 1992. Aluminium tolerance in barley: Genetic relationships among genotypes of diverse origin. *Crop Sci.* 32:593–598.
- Minella, E. and M.E. Sorrells. 1997. Inheritance and chromosome location of *Alp*, a gene controlling aluminium tolerance in 'Dayton' barley. *Plant Breed.* 116:465–469.
- Nguyen, B., D.S. Brar, B.C. Bui, T.V. Nguyen, L.N. Pham, and H.T. Nguyen. 2003. Identification and mapping of the QTL for aluminium tolerance introgressed from the new source, *Oryza rufipogon* Griff., into *indica* rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 106:583–593.
- Nguyen, V.T., M.D. Burow, H.T. Nguyen, B.T. Le, T.D. Le, and A.H. Paterson. 2001. Molecular mapping of genes conferring aluminium tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 102:1002–1010.
- Nguyen, V.T., B.D. Nguyen, S. Sarkarung, C. Martinez, A.H. Paterson, and H.T. Nguyen. 2002. Mapping of genes controlling aluminium tolerance in rice: Comparison of different genetic backgrounds. *Mol. Genet. Genom.* 267:722–780.
- Ninamango-Cardenas, F.E., C.T. Guimaraes, P.R. Martins, S.N. Parentoni, N.P. Carneiro, M.A. Lopes, J.R. Moro, and E. Paiva. 2003. Mapping QTLs for aluminium tolerance in maize. *Euphytica* 130:223–232.
- Notohadiprawiro, T. 1983. Persoalan tanah masam dalam pembangunan pertanian di Indonesia. Buletin Fakultas Pertanian, UGM Yogyakarta 18:44–47.
- Pandey, S., H. Caballos, R. Magnavaca, A.F.C. Bahia Filho, J. Dugue-Vargues, and L.E. Vinasco. 1994. Genetics of tolerance to soil acidity in tropical maize. *Crop Sci.* 34:1511–1514.
- Pereira, J.F., G. Zhou, E. Delhaize, T. Richardson, M. Zhou, and P.R. Ryan. 2010. Engineering greater aluminium resistance in wheat by overexpressing *TaALMT1*. *Ann. Bot.* 106(1):205–214.
- Prasetyono, J., Tasliah, H. Aswidinnoor, dan S. Moeljopawiro. 2003. Identifikasi marka mikrosatelit yang terpaut dengan sifat toleransi terhadap keracunan aluminium pada padi persilangan Dupa x ITA131. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 8(2):35–45.
- Raman, H., K. Zhang, and M. Cakir. 2003. Development and allele diversity of microsatellite markers linked with an aluminium tolerance gene *Alp* in barley. *Aust. J. Agric. Res.* 54:1315–1321.
- Rao, I.M., R.S. Zeigler, R. Vera, and S. Sarkarung. 1993. Selection and breeding for acid soil tolerance in crops: Upland rice and tropical forages as case studies. *BioScience* 43:454–465.
- Reid, D.A. 1971. Genetic control of reaction to aluminium in winter barley. In: R.A. Nilan, editor, *Proceedings of the II International Barley Genetics Symposium*. Washington State University Press, Pullman, WA, USA. p. 409–413.
- Rhue, R., C.O. Grogan, E.W. Stockmeyer, and H.L. Evert. 1978. Genetic control of aluminium tolerance in corn. *Crop Sci.* 18:1063–1067.
- Riede, C.R. and J.A. Anderson. 1996. Linkage of RFLP markers to an aluminium tolerant gene in wheat. *Crop Sci.* 36:905–909.
- Roy, B. and A.B. Mandal. 2005. Towards development of aluminium toxicity tolerant lines in *indica* rice by exploiting somaclonal variation. *Euphytica* 145:221–227.

- Ryan, P.R., S.D. Tyerman, and T. Sasaki. 2011. Identification of aluminium-resistance genes provides opportunities for enhancing crop production on acid soils. *J. Exp. Botany* 62:9–20.
- Satyawan, D., H. Rijzaani, and I.M. Tasma. 2014. Characterization of genomic variation in Indonesian soybean (*Glycine max*) varieties using next-generation sequencing. *Plant Genet. Res.* 12:S109–S113.
- Sasaki, M., M. Kasai, Y. Yamamoto, B. Ezaki, and H. Matsumoto. 2004. A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter. *Plant J.* 37:645–653.
- Sharma, U.C. and R.P. Singh. 2002. Acid soils of India: Their distribution, management, and future strategies for higher productivity. *Fertilizer News* 47:45–52.
- Sibov, S., M. Gaspar, M.J. Silva, L.M.M. Ottoboni, P. Arruda, and A.P. Souza. 1999. Two genes control aluminium tolerance in maize: Genetic and molecular mapping analyses. *Genome* 42:475–482.
- Singh, D. and A.K. Choudhary. 2010. Inheritance pattern of Al tolerance in pea. *Plant Breed.* 129:688–692.
- Singh, D. and R.S. Raje. 2011. Genetic of aluminium tolerance in chickpea. *Plant Breed.* 130:229–240.
- Singh, D., N.P. Singh, S.K. Chaudran, and P. Singh. 2011. Developing aluminum-tolerant crop plants using biotechnological tools. *Curr. Sci.* 100:1807–1814.
- Somers, D.J. and J.P. Gustafson. 1995. The expression of Al stress induced polypeptides in a population segregating for Al tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome* 38:1213–1220.
- Spehar, C.R. 1995. Impact of strategic genes in soybean on agricultural development in the Brazilian savannah. *Field Crops Res.* 41(3):141–146.
- Spehar, C.R. and N.W. Galwey. 1996. Diallel analysis for aluminium tolerance in tropical soybeans (*Glycine max* [L.] Merrill). *Theor. Appl. Genet.* 92:267–272.
- Stolon, O. and S. Andersen. 1978. Inheritance of tolerance to low pH in barley. *Hereditas* 88:101–105.
- Suhartini, T. 2010. Pertumbuhan akar genotip padi gogo pada kahat fosfor dan cekaman aluminium. *Berita Biologi* 10(3):375–383.
- Tang, Y., M.E. Sorrells, L.V. Kochian, and D.F. Garvin. 2000. Identification of RFLP markers linked to the barley Al tolerance gene *Alp*. *Crop Sci.* 40:778–782.
- Tasliah, T. Suhartini, J. Prasetyono, I.H. Somantri, dan M. Bustamam. 2011. Respon genotipe padi pogo terhadap defisiensi P.J. Pen. Pert. Tan. Pangan 30(3):172–181.
- Tasma, I.M., A. Warsun, and Asadi. 2008. Development and characterization of F₂ population for molecular mapping of aluminium toxicity tolerant QTL in soybean. *J. AgroBiogen* 4:1–8.
- Tasma, I.M., P. Lestari, H. Rijzaani, D.W. Utami, D. Satyawan, M. Pabendon, E. Mansyah, dan I. Rosdianti. 2014. Analisis genom dan sidik jari DNA komoditas pertanian strategis: Padi, kelapa sawit, jarak pagar, kedelai, jagung, cabai merah, kakao, pisang, kentang, dan sapi. Laporan Akhir Penelitian APBN 2014. BB Biogen, Bogor.
- Tasma, I.M., H. Rijzaani, D. Satyawan, P. Lestari, D.W. Utami, I. Rosdianti, R. Purba, E. Mansyah, A. Sutanto, R. Kirana, Kusmana, A. Anggraeni, M. Pabendon, and Rubiyo. 2015. Next-gen-based DNA marker development of several importance crop and animal species. Paper presented at: SABRAO 13th Congress and International Conference, Bogor, Indonesia. 14–15 Sep. 2015.
- Trijatmiko, K.R., Supriyanta, J. Prasetyono, M.J. Thomson, C.M. Vera Cruz, S. Moeljopawiro, and A. Pereira. 2014. Meta-analysis of QTLs for grain yield and component traits under reproductive-stage drought stress in an upland rice population. *Mol. Breed.* 34:283–295.
- Wang, J.P., H. Raman, M.X. Zhou, P.R. Ryan, E. Delhaize, D.M. Hebb, N. Coombes, and N. Mendham. 2007. High-resolution mapping of the *Alp* locus and identification of a candidate gene *HvMATE* controlling aluminium tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. Appl. Genet.* 115:265–276.
- Watanabe, T. and M. Osaki. 2002. Mechanisms of adaptation to high aluminum condition in native plant species growing in acid soils: A review. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 33:1247–1260.
- Wheeler, D.M., D.C. Edmeades, R.A. Christie, and R. Gardner. 1992. Comparison of techniques for determining the effect of aluminium on the growth and inheritance of aluminium tolerance in wheat. *Plant Soil* 146:1–8.
- Wissuwa, M. 2005. Combining a modeling with a genetic approach in establishing associations between genetic and physiological effects in relation to phosphorus uptake. *Plant Soil* 269:57–68.
- Wissuwa, M. and N. Ae. 2001. Genotypic variation for tolerance to phosphorus deficiency in rice and the potential for its exploitation in rice improvement. *Plant Breed.* 120:43–48.
- Wu, P., C.Y. Liao, B. Hu, K.K. Yi, W.Y. Jin, J.J. Ni, and C. He. 2000. QTLs and epistasis for aluminium tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) at different seedling stages. *Theor. Appl. Genet.* 100:1295–1303.
- Xia, J., N. Yamaji, T. Kasai, and J.F. Ma. 2010. Plasma membrane-localized transporter for aluminum in rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107:18381–18385.
- Xue, Y., J.M. Wan, L. Jiang, L.L. Liu, N. Su, H.Q. Zhai, and J.F. Ma. 2006. QTL analysis of Al resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Soil* 287:375–383.

Yang, X.Y., J.L. Yang, and Y.A. Zhou. 2011. A de novo synthesis citrate transporter, *Vigna umbellata* multidrug and toxic compound extrusion, implicates in Al-activated citrate efflux in rice bean (*Vigna umbellata*) root apex. *Plant Cell Environ.* 34:2138–2148.

Yokosho, K., N. Yamaji, and J.F. Ma. 2010. Isolation and characterization of two MATE genes in rye. *Funct. Plant Biol.* 37:296–303.
