

Regenerasi Tanaman pada Kultur Antera Beberapa Aksesori Padi *Indica* Toleran Aluminium

Iswari S. Dewi¹, Bambang S. Purwoko², Hajrial Aswidinnoor², Ida H. Somantri¹, dan M.A. Chozin²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar No. 3A, Bogor 16111

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

ABSTRACT

Plant Regeneration from Anther Culture of Several Accessions of *Indica* Rice Tolerant to Aluminum. *Iswari S. Dewi, Bambang S. Purwoko, Hajrial Aswidinnoor, Ida H. Somantri, and M.A. Chozin.* Anther culture provides the quick route in obtaining pure lines in a single generation from either green haploid plant that may be artificially or spontaneously doubled. *Indica* rice known as recalcitrant genotype because of its difficulty in regenerating sufficient number of green plantlets among the regenerated plants through anther culture. Whilst, research on studying anther culture ability has to be done to assure the success of rice breeding through anther culture. The objective of this research was to determine regeneration ability of five accessions of *indica* rice tolerance to aluminum through application of putrescine in anther culture. Completely randomized design with 15 replications was used in this research. Treatments consisted of five accessions of aluminum tolerance *indica* rice, ie. CT6510-24-1-3, Grogol, Hawara Bunar, Krowal, and Sigundil. Callus induction medium based on N6 medium + 10^{-3} M putrescine, while regeneration medium based on MS + 10^{-3} M putrescine. The results indicated that culture ability is controlled by the genotype. From this research, Grogol, Krowal and Sigundil were selected as accessions having good rice anther culture ability, and therefore can be used as parents for developing new rice varieties tolerance to aluminum through anther culture.

Key words: Rice, subspecies *indica*, anther culture, plant regeneration.

PENDAHULUAN

Di Indonesia perakitan varietas unggul padi yang toleran aluminium, merupakan salah satu prioritas. Hal ini disebabkan umumnya lahan kering di luar Jawa didominasi oleh tanah Podzolik Merah Kuning di mana kandungan aluminium merupakan faktor pembatas pertumbuhan tanaman yang utama (Partohardjono *et al.* 1997). Beberapa aksesori padi gogo subspecies *indica* yang dapat dipilih sebagai sumber toleransi terhadap cekaman aluminium antara lain Sigundil, Hawara Bunar, Grogol, Seratus Malam, Krowal, Ketombol, Sgiliti, Mendali, Banih Kuning, Bakka Turuy, Cempo, ITA 24764, dan CT 6510-24-1-3 (Purwoko *et al.* 2005; Jagau 2000; Suparto 1999; Asfaruddin 1997).

Pemuliaan tanaman padi melibatkan proses menyilangkan dan menyeleksi yang dapat berlangsung antara 8 sampai 10 generasi untuk memproduksi galur murni dari populasi heterogen. Proses pemuliaan untuk memperoleh galur-galur murni yang lama tersebut dapat lebih singkat hanya satu sampai dua generasi saja melalui pemanfaatan sistem haploid (Dewi *et al.* 1996). Untuk menghasilkan tanaman haploid ganda pada tanaman sereal, seperti padi, lebih sering dilakukan melalui kultur antera dibandingkan dengan melalui kultur tepung sari. Hal ini disebabkan frekuensi pembentukan tanaman hijau sangat rendah pada kultur tepung sari (Cho dan Zapata 1990). Namun demikian, padi subspecies *indica* merupakan genotipe rekalsitran yang sulit menghasilkan regenerasi tanaman hijau melalui kultur antera. Para ahli di Cina dapat menghasilkan tanaman hijau paling tinggi sebesar 3,0% untuk *indica* (Zhang 1989), sedangkan untuk persilangan *indica/indica* lebih rendah lagi, yaitu sebesar 2,0% (Zhuo *et al.* 1996).

Menurut Li (1992), penelitian mengenai kemampuan suatu genotipe dalam menghasilkan tanaman hijau perlu dilakukan untuk menjamin keberhasilan pemuliaan padi melalui kultur antera. Selain tergantung dari genotipe yang digunakan sebagai bahan kultur, daya kultur antera juga dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam media (Chung 1992). Poliamin dilaporkan sebagai zat pengatur tumbuh yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, mulai dari perkecambahan biji sampai senesen (Kumar *et al.* 1997). Putresin adalah salah satu jenis zat pengatur tumbuh poliamin yang merupakan prekursor untuk sintesis poliamin lain, yaitu berturut-turut spermidin dan spermin lewat penambahan satu dan dua gugus amino-propil. Dewi *et al.* (2004) melaporkan bahwa putresin lebih efisien dibandingkan dengan spermidin dan spermin dalam meningkatkan induksi kalus dan regenerasi tanaman pada kultur antera model padi Taipei-309.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari kemampuan beregenerasi beberapa aksesori plasma nutfah padi *indica* yang akan dipilih sebagai tetua sumber toleran cekaman aluminium melalui teknik kultur antera yang menggunakan putresin.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan ialah antera plasma nut-fah padi subspecies *indica* toleran cekaman aluminium, yaitu CT 6510-24-1-3, Grogol, Hawara Bunar, Krowal, dan Sigundil (Jagau 2000; Asfaruddin 1997; Suparto 1999) serta media berbasis N6 (Chu 1978) untuk induksi kalus dan MS (Murashige dan Skoog 1962) untuk regenerasi tanaman dengan penambahan 10^{-3} M putresin. Percobaan dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan masing-masing perlakuan diulang 15 kali. Setiap ulangan adalah 1 cawan petri yang berisi ± 150 antera yang berasal dari 25 buah bunga atau spikelet muda.

Pelaksanaan kultur antera mengikuti metode Dewi *et al.* (1994). Malai dikoleksi saat tanaman padi pada fase bunting, kemudian disimpan selama 8 hari dalam ruang bersuhu 5°C. Sebelum dilakukan penanaman antera dilakukan seleksi malai untuk mendapatkan antera yang berisi butir sari/mikrospora unikuleat. Malai terpilih disterilkan dengan 20% Bayclin. Spikelet yang sudah steril dipotong 1/3 dari pangkalnya dan dikumpulkan pada cawan petri steril. Masing-masing spikelet kemudian dijepit dengan pinset dan diketukkan pada tepi cawan petri yang berisi 25 ml media induksi kalus, sampai antera keluar dan jatuh ke atas media. Selanjutnya kultur diinkubasi di ruang gelap pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$ untuk menginduksi kalus dari butir sari di dalam antera.

Kalus bertekstur kompak ukuran 1-2 mm (Sasmitha *et al.* 2001) dipindahkan ke dalam botol kultur yang berisi 25 ml media regenerasi. Tanaman hijau yang sudah mencapai tinggi 3-5 cm dipindahkan ke dalam tabung kultur berisi 15 ml media perakaran, yaitu MS + 0,5 mg/l IBA.

Pengamatan meliputi jumlah antera yang membentuk kalus (AMK), jumlah kalus yang terbentuk (JK), jumlah kalus yang menghasilkan tanaman (KMT), jumlah tanaman (TT), jumlah tanaman hijau (TH), dan jumlah tanaman albino (TA).

Kemampuan perlakuan untuk menginduksi kalus dan dideferensiasi kalus menjadi tanaman dihitung berdasarkan persentase AMK terhadap persentase KMT yang disebut sebagai *rice anther culture ability* (RACA), sedangkan efisiensi setiap perlakuan di dalam menghasilkan tanaman hijau dihitung sebagai rasio tanaman hijau per antera yang ditanam. Data dianalisis menggunakan sidik ragam, jika ada perbedaan dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemberian 10^{-3} M putresin pada media induksi dan regenerasi kalus telah berhasil meningkatkan tanaman hijau pada kultur antera persilangan model padi (Dewi *et al.* 2004) namun belum diketahui efektivitasnya pada kultur antera padi *indica*. Efisiensi teknik kultur antera ditentukan oleh tanaman hijau yang dapat dihasilkan serta tanaman haploid ganda yang dihasilkan baik secara spontan maupun diinduksi. Produksi tanaman hijau melalui kultur antera ditentukan melalui tanggap antera terhadap kultur *in vitro*, keberhasilan induksi kalus dan regenerasi kalus tersebut menjadi tanaman hijau. Oleh karena itu, kemampuan menginduksi kalus atau embrioid dari mikrospora atau polen merupakan faktor pertama yang akan menentukan keefisienan kultur antera (Zhou 1996).

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kemampuan setiap genotipe dalam menghasilkan kalus dan meregenerasikannya menjadi tanaman berbeda-beda (Tabel 1 dan 2). Pada kelima aksesi yang diuji terdapat variasi yang nyata dalam kemampuan antera menghasilkan kalus, kecuali antara Grogol dan Krowal (Tabel 1). Tanggap antera dalam menghasilkan kalus tertinggi diperoleh dari Sigundil (36,3 antera/cawan petri), sedangkan terendah dari CT650-1-3 (1,9 antera/cawan petri). Pola yang hampir sama juga terjadi pada jumlah kalus yang dihasilkan. Sigundil menghasilkan 80,4 butir kalus/cawan petri, sedangkan CT650-1-3 menghasilkan 2,9 butir kalus/cawan petri. Pola yang sama juga diperoleh untuk kemampuan antera dalam menghasilkan kalus.

Efisiensi antera dalam menghasilkan kalus beragam antar kelima aksesi. Persentase antera menghasilkan kalus tertinggi diperoleh dari Sigundil (26,51%) diikuti oleh Grogol (12,87%) dan Krowal (10,69%). Pola yang sama terjadi pada persentase kalus terhadap antera dengan persentase tertinggi diperoleh dari Sigundil (58,6%) dan terendah dari CT650-1-3 (2,11%).

Hanya sebagian kecil kalus yang dapat menghasilkan tanaman, baik tanaman hijau, albino atau keduanya (Tabel 2). Zhang (1992) melaporkan bahwa kalus yang dapat beregenerasi menjadi tanaman adalah kalus yang bertekstur kompak, sedangkan kalus yang remah, basah, dan transparan sulit untuk berdeferensiasi menghasilkan tanaman. Sigundil mempunyai kalus menghasilkan tanaman terbanyak (3,5 butir kalus/cawan petri) sedangkan terendah adalah CT650-1-3, yaitu 0,3 butir kalus/cawan petri. Dilihat dari efisiensi kalus dalam menghasilkan tanaman, meskipun Sigundil menghasilkan kalus terbanyak (Tabel 1) tetapi ternyata terendah dalam persentase kalus menghasilkan tanaman. Persentase kalus menghasilkan tanaman tertinggi dicapai oleh Hawara Bunar (Tabel 2).

Tabel 1. Produksi kalus pada kultur antera padi indica aksesi toleran cekaman aluminium.

| Aksesi | Jumlah antera menghasilkan kalus | | Jumlah Kalus | |
|--------------|----------------------------------|------------|--------------|------------|
| | Rata-rata | Persentase | Rata-rata | Antera (%) |
| Hawara Bunar | 4,1c | 2,86c | 6,3c | 4,45c |
| Grogol | 17,3b | 12,87b | 33,7b | 25,13b |
| Sigundil | 36,3a | 26,51a | 80,4a | 58,60a |
| CT650-24-1-3 | 1,9d | 1,39d | 2,9c | 2,11c |
| Krowal | 15,7b | 10,69b | 31,8b | 21,82b |

Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji DMRT.

Tabel 2. Efisiensi kalus dalam menghasilkan tanaman pada kultur antera padi indica aksesi toleran cekaman aluminium.

| Aksesi | Jumlah kalus menghasilkan tanaman | | Jumlah tanaman total | RACA ¹ |
|--------------|-----------------------------------|------------|----------------------|-------------------|
| | Rata-rata | Persentase | Rata-rata | |
| Hawara Bunar | 1,7b | 53,28a | 5,8b | 0,08 |
| Grogol | 2,5ab | 11,09c | 7,4b | 2,27 |
| Sigundil | 3,5a | 4,80d | 13,9ab | 12,21 |
| CT650-24-1-3 | 0,3c | 20,51b | 0,7c | 0,10 |
| Krowal | 2,9ab | 13,12c | 14,2a | 1,66 |

RACA = *rice anther culture ability*, yaitu kemampuan menghasilkan tanaman pada kultur antera; ¹ tidak diuji statistik. Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji DMRT.

Rata-rata jumlah tanaman yang dihasilkan dari setiap aksesi yang diuji juga bervariasi. Rata-rata jumlah tanaman terbanyak dihasilkan oleh Krowal, yaitu 14,2 tanaman (Tabel 2). Rata-rata jumlah tanaman yang dihasilkan Krowal tidak berbeda nyata dengan Sigundil, tetapi berbeda nyata dengan Hawara Bunar, Grogol, dan CT650-1-3. Penelitian Zhang (1989) menunjukkan bahwa pada kultur antera padi, genotipe berbeda akan berbeda dalam laju induksi kalus dan diferensiasi kalus menjadi tanaman. Hasil RACA tertinggi diperoleh dari Sigundil, yaitu 12,21 dan terendah dari Hawara bunar, yaitu 0,08 (Tabel 2).

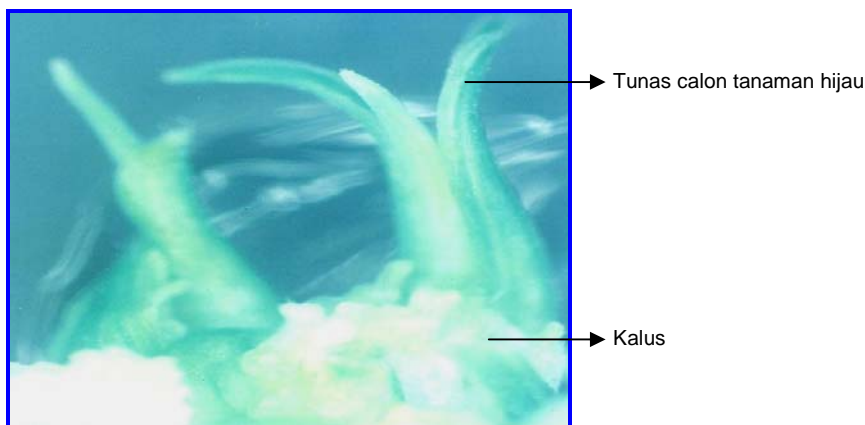
Pada kultur jaringan padi dan sereal lainya regenerasi tanaman dari kalus dapat berupa tanaman hijau maupun tanaman albino, yaitu tanaman yang tidak mempunyai klorofil. Tanaman hijau umumnya dihasilkan oleh kalus yang berwarna kekuningan, sedangkan kalus yang berwarna putih menghasilkan tanaman albino (Gambar 1). Kalus yang pertama kali muncul umumnya sangat mudah berdiferensiasi menjadi tanaman hijau (Dewi *et al.* 2004; Sasmita *et al.* 2001).

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa genotipe tanaman donor nyata mempunyai peran penting dalam menentukan produksi tanaman hijau melalui kultur antera (Tabel 3). Masyhudi (1997), Razdan (1993), dan Chung (1992) juga menemukan hasil yang sama pada kultur antera padi *javanica* dan *japonica*. Produksi tanaman hijau, berturut-turut dari yang tertinggi ke terendah, diperoleh dari Sigundil, Krowal, dan

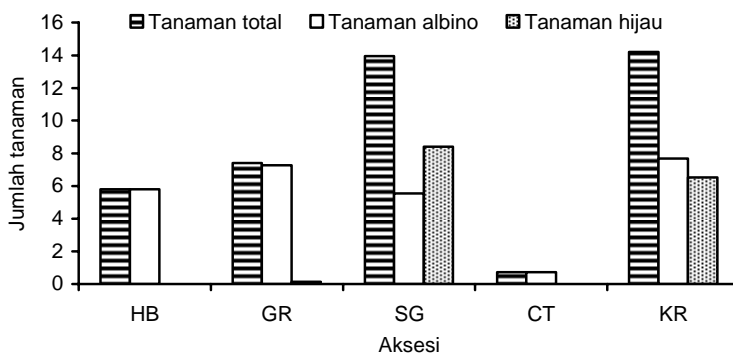
Grogol, sedangkan Hawara Bunar dan CT650-24-1-3 hanya dapat menghasilkan tanaman albino (Gambar 2).

Pada tanaman sereal, persentase tanaman hijau yang dapat diregenerasikan masih merupakan faktor pembatas dalam penggunaan kultur antera untuk pemuliaan (Zhou 1996). Pada penelitian ini (Tabel 3), persentase tanaman hijau tertinggi diperoleh dari Sigundil (60,29%) diikuti oleh Krowal (46,01%) dan Grogol (1,80%). Untuk padi subspecies *indica* persentase tanaman hijau ini cukup baik. Hal ini disebabkan pada umumnya persentase tanaman hijau yang diperoleh dari padi subspecies *indica* hanya sekitar 3% (Zhang 1989). Hasil pada kultur antera padi subspecies *indica* yang menggunakan 10^{-3} M putresin ini hampir sebanding dengan penelitian Chen (1983) pada kultur antera padi subspecies *japonica* tanpa putresin. Subspecies ini mempunyai *anther culture ability* tinggi, dengan frekuensi kemampuan kalus beregenerasi menjadi tanaman hijau berkisar antara 20-60%.

Menurut Zhang (1992) dalam kultur antera, efisiensi kultur antera yang terkait dengan produksi tanaman hijau dinyatakan dalam rasio tanaman hijau (TH) terhadap jumlah kalus menghasilkan tanaman (KMT) dan persentase tanaman hijau yang dihasilkan terhadap jumlah antera yang dikulturkan. Kedua peubah ini merupakan kriteria terpenting dalam memperhitungkan efisiensi penggunaan kultur antera. Pada penelitian ini, rasio TH terhadap KMT dari yang ter-



Gambar 1. Tunas calon tanaman hijau dihasilkan oleh kalus bertekstur kompak berwarna agak kekuningan.



Gambar 2. Regenerasi tanaman hasil kultur antera pada lima aksesori padi subspecies indica toleran aluminium. HB = Hawara Bunar, GR = Grogol, SG = Sigundil, CT = CT6510-24-1-3, KR = Krowal.

Tabel 3. Efisiensi produksi tanaman pada kultur antera padi indica aksesori toleran cekaman aluminium.

| Aksesori | Tanaman | | | | Efisiensi Kultur Antera | |
|--------------|---------|---------|------|---------|-------------------------|---|
| | TH | TH* (%) | TA | TA* (%) | Rasio TH terhadap KMT | TH terhadap jumlah antera diinokulasi (%) |
| Hawara Bunar | 0,0c | 0,00 | 5,8a | 100,00 | 0,00c | 0,00c |
| Grogol | 0,1c | 1,80 | 7,3a | 98,20 | 1,50b | 0,08c |
| Sigundil | 8,4a | 60,29 | 5,5a | 39,71 | 2,60a | 6,08a |
| CT650-24-1-3 | 0,0c | 0,00 | 0,7b | 100,00 | 0,00c | 0,00c |
| Krowal | 6,5b | 46,01 | 7,7a | 53,99 | 1,20b | 4,32b |

TH = tanaman hijau, TA = tanaman albino, KMT = kalus menghasilkan tanaman, * = tidak diuji statistik. Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji DMRT.

tinggi berturut-turut adalah Sigundil (2,6), Grogol (1,5), dan Krowal (1,2), sedangkan untuk persentase TH terhadap jumlah antera diinokulasi berturut-turut adalah Sigundil (6,08), Krowal (4,32), dan Grogol (0,08). Hal ini menunjukkan bahwa efisiensi ketiga aksesori tersebut dalam menghasilkan tanaman hijau lebih baik dibandingkan dengan Hawara Bunar dan CT650-24-1-3 (Tabel 3).

Sehubungan dengan *rice anther culture ability* (RACA) (Tabel 2) serta efisiensi genotipe dalam meng-

hasilkan tanaman hijau (Tabel 3), Sigundil, Krowal, dan Grogol merupakan aksesori yang terpilih untuk digunakan pada penelitian selanjutnya sebagai salah satu tetua dari tanaman F1 yang anteranya akan digunakan dalam kultur antera padi F1 indica x indica. Dasar pemilihan ini sesuai dengan anjuran Sopory dan Munshi (1996) yang menekankan akan lebih pentingnya memilih genotipe yang dapat meregenerasikan tanaman hijau dibandingkan dengan genotipe yang memproduksi kalus yang banyak.

Dengan diperolehnya informasi kemampuan meregenerasikan tanaman hijau melalui kultur antera pada aksesi padi toleran aluminium ini, pada penelitian selanjutnya diharapkan akan dapat diperoleh galur haploid ganda spontan dengan jumlah yang cukup dari kultur antera F1 hasil persilangan aksesi toleran Al tersebut dengan varietas unggul. Galur murni tersebut akan dapat digunakan sebagai bahan seleksi untuk menghasilkan varietas baru yang berdaya hasil tinggi seperti varietas unggul serta mempunyai toleransi tinggi terhadap cekaman aluminium seperti ketiga aksesi toleran, yaitu Sigundil, Krowal, dan Grogol.

KESIMPULAN

Kemampuan meregenerasikan tanaman melalui kultur antera dipengaruhi oleh perbedaan kelima genotipe padi subspecies indica yang diuji. Grogol, Krowal, dan Sigundil merupakan aksesi yang mempunyai kemampuan meregenerasikan tanaman hijau yang cukup baik melalui kultur antera, sehingga berpotensi untuk digunakan dalam perakitan varietas baru toleran aluminium.

DAFTAR PUSTAKA

- Asfaruddin. 1997.** Evaluasi ketenggangan galur-galur padi gogo terhadap keracunan aluminium dan efisiensinya dalam penggunaan kalium. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Chen, Y. 1983.** Anther and pollen culture of rice in China. *In Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement. Proceedings of a Workshop cosponsored by the Institute of Genetics, Academia Sinica and the International Rice Research Institute.* Science Press, Beijing, China, p. 11-26.
- Cho, M.S. and F.J. Zapata. 1990.** Plant regeneration from isolated microspore of indica rice. *Plant Cell Physiol.* 31:881-885.
- Chu, C.C. 1978.** The N6 medium and its applications to anther culture of cereal crops. *In Proc. Symp. on Plant Tissue Culture.* 23-30 May 1978. Science Press, Peking, China. p. 43-50.
- Chung, G.S. 1992.** Anther culture for rice improvement in Korea. *In Zheng, K. and T. Murashige (Eds.). Anther Culture for Rice Breeders. Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China.* p. 8-37.
- Dewi, I.S., A.D. Ambarwati, M.F. Masyhudi, T. Soewito, dan Suwarno. 1994.** Induksi kalus dan regenerasi kultur antera padi (*Oryza sativa* L.). *Risalah Hasil Penelitian Tanaman Pangan* 2:136-143.
- Dewi, I.S., I. Hanarida, and S. Rianawati. 1996.** Anther culture and its application for rice improvement program in Indonesia. *Indon. Agric. Res. and Dev. J.* 18:51-56.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, dan I.H. Somantri. 2004.** Kultur antera padi pada beberapa formulasi media yang mengandung poliamin. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 9(1):14-19.
- Jagau, Y. 2000.** Fisiologi dan pewarisan efisiensi nitrogen dalam cekaman aluminium pada padi gogo. Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Kumar, A., T. Altabella, M.A. Taylor, and A.F. Tiburcio. 1997.** Recent advances in polyamine research. *Trends in Plant Sci.* 2:124-130.
- Li, M.F. 1992.** Anther culture breeding of rice at the CAAS. *In Zheng, K. and T. Murashige (Eds.). Anther Culture for Rice Breeders. Proceedings of Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China.* p. 75-86.
- Masyhudi, M.F. 1997.** Kultur antera tanaman padi subspecies javanica. *Jurnal Litbang Pertanian* XVI(1):30-36.
- Murashige T. and F. Skoog. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Partohardjono, S., Z. Zaini, dan H. Anwarhan. 1997.** Tantangan dan harapan produksi pangan di wilayah lahan kering untuk memenuhi pangan nasional. *Dalam Arifin, B., C. Silitonga, M.H. Sawit, dan M. Utomo (Eds.). Prosiding Seminar Nasional Pemberdayaan Lahan Kering Untuk Penyediaan Pangan Abad 21. Kerjasama PERHEPI Indonesia dengan UNILA.* Lampung, Februari 1997. hlm. 47-67.
- Purwoko, B.S., I.S. Dewi, D.W. Utami, dan Suwarno. 2005.** Perakitan padi gogo toleran aluminium asal tanaman haploid ganda hasil kultur antera. *Laporan HB XI. LPPM-IPB.* 73 hlm.
- Razdan, M.K. 1993.** An introduction to plant tissue culture. Oxford & IBH Publishing Co., Ltd. New Delhi.
- Sasmita, P., I.S. Dewi, dan B.S. Purwoko. 2001.** Pengaruh generasi kalus terhadap regenerasi tanaman pada kultur antera padi (*Oryza sativa* L.) kultivar Gajah Mungkur. *Sain Teks (Edisi Khusus):*179-188.
- Sopory, S.K. and M. Munshi. 1996.** Anther culture. *In Jain, S.M, S.K Sopory, and R.E. Veilleux (Eds.). In Vitro Haploid Production in Higher Plants. Vol. I. Fundamental Aspects and Methods.* Kluwer Acad. Publ. Netherlands. p.145-176.
- Suparto, H. 1999.** Evaluasi ketenggangan padi gogo terhadap cekaman aluminium dan efisiensi penggunaan nitrogen. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Zhang, Z.H. 1989.** The practicability of anther culture breeding in rice. *In Mujeeb-Kazi, A. and L.A. Stich (Eds.). Review of Advances in Plant Biotechnology, 1985-88.* International Maize and Wheat Improvement Center-International Rice Research Institute. p. 31-42.
- Zhang, Z.H. 1992.** Anther culture for rice breeding at SAAS. *In Zheng, K. and T. Murashige (Eds.). Anther Culture for Rice Breeders. Proceedings of Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China.* p. 38-74.

Zhou, H. 1996. Genetics of green plantlet regeneration from anther culture of cereals. *In* Jain, S.M., S.K. Sopory, and R.E. Veilleux (*Eds.*). *In Vitro* Haploid Production in Higher Plants. Vol. 2. Applications. Kluwer Acad. Publ. Netherlands. p. 169-187.

Zhuo, L.S., H.M. Si, S.H. Cheng, and Z.X. Sun. 1996. Phenylacetic acid stimulation of direct shoot formation in anther and somatic tissue cultures of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breed.* 115:295-300.
