

TINJAUAN ULANG (RIVIEW)

MEKANISME TOLERANSI DAN METODE SELEKSITUMBUHAN YANG TAHAN TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN [Mechanism of Tolerance and Methods to Select Drought Resistance Plants]

Endang Gati Lestari

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi
dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen)

Jl Tentara Pelajar 3a, Bogor

[borif\(5\).indo.net.id](mailto:borif(5).indo.net.id)

ABSTRACT

Water is the main parameter to determine whether the yield potential of a plant is obtained or not. Water deficit on the tissue causes the disruption of all chemical process in the plant metabolism resulted in the plant growth impediment. In order to acquire the drought tolerance variety, various efforts have been conducted. Among others, in addition to the selection and characterization of the available germ plasma along with its cross-breeding, the development of the drought tolerance plant is conducted through somaclonal varitype induction. In the cultivation of the drought tolerance plant, beside physiological mechanism and biochemistry related to the plant tolerant to drought, the procedure of the selective and optimal selection should be managed. Hence, the mastery of the optimum selection techniques, in a relatively short time, the new drought tolerance lines could be obtained.

Kata Kunci: cekaman kekeringan, mekanisme fisiologi dan biokimia, padi.

PENDAHULUAN

Pengaruh cekaman kekeringan terhadap pertumbuhan tanaman

Cekaman kekeringan akibat defisit air yang ekstrim pada tanaman padi merupakan masalah utama yang menyebabkan penurunan produksi padi sawah. Masalah tersebut akan terus berkembang pada masa-masa mendatang. Kekeringan pada tanaman padi sawah yang menyebabkan gagal panen (puso) di P. Jawa pada tahun 1990-2000 mencapai rata-rata 296.164 hektar per tahun, sedangkan kekeringan biasa saja di lahan sawah pada tahun 2003 mencapai 445.382 hektar (Makarim, 2005).

Kekurangan air pada jaringan tanaman walaupun dalam waktu yang singkat dapat menyebabkan menurunnya hasil gabah, terutama bila kekeringan yang terjadi pada saat-saat anthesis dan pembibitan (Mackill *et al.*, 1996). Penurunan hasil gabah dapat disebabkan antara lain oleh penurunan aktivitas fotosintesis dan metabolisme yang berakibat langsung pada penurunan produksi (Du *et al.*, 1996). Penurunan aktivitas fotosintesis dan metabolisme ini dapat menyebabkan sterilitas polen (Curtois dan Lafitte, 1999) sehingga produksi menjadi turun.

Defisit air dalam jaringan tumbuhan dapat disebabkan oleh kekurangan suplai air di daerah perakaran (rizosfer), atau karena permintaan air yang berlebihan oleh daun dalam kondisi laju evapotranspirasi melebihi laju penyerapan air oleh akar tanaman. Serapan air oleh akar tanaman dipengaruhi oleh laju transpirasi dan ketersediaan airtanah (Lakitan, 19%).

Adanya kekurangan air di daerah perakaran menyebabkan aktivitas pembelahan sel di daerah meristem akar menurun (Sacks *et al.*, 1997), sehingga menurunkan berat kering akar (Huang dan Jiang, 2000) selain itu berakibat menurunnya potensial air ((Olson *etal.*, 1996).

Respon tanaman terhadap cekaman kekeringan

Respon tanaman pada saat mengalami cekaman kekeringan adalah sebagai berikut: perubahan di tingkat seluler dan molekuler, pengecilan volume sel, seperti penurunan luas daun, peningkatan rasio akar-tajuk dan sensitifitas stomata. Selain itu terjadi pula penurunan laju fotosintesis, peningkatan akumulasi senyawa osmotik terlarut seperti prolin, gula betain dan gula alkohol, perubahan aktivitas enzim serta perubahan ekspresi gen; contohnya tumbuhan mampu

menghasilkan akar yang panjang dan tebal dan pembentukan lapisan kutikula pada daun (Kramer, 1980; Pugnaire *et al.*, 1999). Selain itu terjadi pula peningkatan produksi superoksida dan peroksida yang menyebabkan kerusakan pada membran dan aktifitas enzim (Holmberg dan Bulow, 1998).

Mekanisme toleransi terhadap kekeringan pada umumnya dikendalikan oleh banyak gen dan ekspresi dari masing-masing gen tersebut sangat kompleks (Blum, 2004; Rutger dan Mackill, 2001; Datta, 2002) sehingga program pemuliaan untuk mendapatkan tanaman yang tahan terhadap kekeringan diarahkan untuk mendapatkan tanaman yang memiliki beberapa karakter yang berhubungan dengan sifat tahan kekeringan. Dalam hal ini diperlukan kerjasama antara beberapa ahli di bidang pemuliaan, fisiologi, biologi serta biokimia (Datta, 2002).

Tumbuhan yang tahan terhadap cekaman kekeringan, pada dasarnya memberikan respon terhadap kondisi kekeringan (defisit air) melalui 3 cara, yaitu morfologis, fisiologis dan biokemis.

Respon Morfologis

Tumbuhan yang mampu membentuk sistem perakaran yang dalam sebelum terjadi kekeringan yang ekstrim mendapat manfaat lebih, dibandingkan tanaman dengan akar yang dangkal. Volume perakaran yang panjang dan tebal akan berkurang apabila kekeringan terjadi lebih cepat di awal siklus hidup tanaman; perakaran ini berfungsi penting dalam menghadapi situasi kekeringan pada bagian akhir umur tanaman (Ngyuen *etal.*, 1991).

Setiap jenis atau varietas tumbuhan memiliki perkembangan perakaran yang berbeda. Selain penyebaran akar, permeabilitas akar besar peranannya dalam menentukan besarnya air yang terserap. Varietas yang termasuk dalam kelompok toleran kekeringan memiliki ciri perakaran yang dalam, padat dan kuat sehingga memberikan jaminan kelancaran pengiriman air dan hara dari dalam tanah ke tanaman (Mackill *et ai*, 1996). Akar yang mampu menembus lapisan dasar pot berupalapisan lilin, panjangnya lebih dari 10 cm dan jumlah akarnya relatif banyak diperkirakan lebih toleran terhadap kekeringan (Suardi, 2001).

Dalam keterkaitan dengan perakaran, genotipe tanaman yang tahan terhadap kekeringan memiliki sifat sebagai berikut: (1) mampu mengembangkan sistem perakarannya pada saat air masih tersedia sebelum tanaman mengalami cekaman kekeringan sehingga tanaman dapat mengekstrak air dari lapisan tanah bagian dalam, (2) memodifikasi sistem perakaran sehingga mampu mengekstrak air dari lapisan air paling dalam, kondisi ini terjadi apabila ada cekaman air.

Galur/varietas padi gogo pada umumnya mempunyai perakaran yang lebih panjang, padat dan diameter akar lebih besar dibandingkan dengan galur/varietas padi sawah (Suardi, 1988) serta memiliki daya tembus akar yang lebih tinggi (Yu *et ai*, 1995); dengan demikian penyerapan air dan menjadi lebih efektif.

Respon Biokemis

Tumbuhan yang mengalami cekaman kekeringan pada umumnya memproduksi senyawa ABA (asam absisat) selain itu juga menghasilkan dehidrin protein yang berfungsi sebagai osmoprotektan (Yamaguchi-Shinozaki *et ai*, 2002). Dengan adanya kekeringan, ABA yang disintesa di dalam akar akan ditransport ke daun untuk mengatur proses fisiologi dan meningkatkan ketersediaan air tanah dengan menghambat kehilangan air melalui penutupan stomata; ABA merupakan derivat sesquiterpenoid dari asam mevalonic yang berperan sebagai penanda biokimia terhadap stres kekeringan (Kirkham, 1990; Setiawan, 1998).

Pada umumnya kandungan ABA pada tumbuhan yang toleran kekeringan akan lebih tinggi dibandingkan dengan jenis yang peka, sehingga ABA selalu dikaitkan dengan sifat toleransi tumbuhan terhadap cekaman kekeringan (Setiawan, 1998). Aplikasi ABA secara eksogen dapat menyebabkan terinduksinya penutupan stomata dan menginduksi akumulasi prolin (Dingkhun *et a/.*, 1991).

Menutupnya stomata yang berhubungan dengan peningkatan asam absisat antara lain disebabkan karena, pengangkutan ion K^+ keluar dari sel, termasuk anion dan ion lain, sehingga tekanan turgor berkurang dan stomata menutup (Jensen *et ai*, 1996). Selain itu dipacu peningkatan Ca^{2+} di dalam sitosol, peningkatan tersebut menyebabkan channel

Ca²⁺ terbuka dan Ca²⁺ keluar dari sitosol, proses ini mengatur pembukaan dan penutupan stomata (Allan *et al.*, 1994).

Mekanisme fisiologi untuk ketahanan terhadap cekaman kekeringan dan kadar garam tinggi (salinitas) adalah peningkatan prolin dalam jaringan (Bates, 1973; Bandurska, 2000), prolin berperan sebagai osmoregulator (Heuer, 1999) dalam proses osmoregulasi (osmotic adjustment). Osmoregulasi merupakan pengaturan/penyesuaian potensial osmotik di dalam sel dengan menambah atau mengurangi zat terlarut hingga potensial osmotik intraseluler mendekati potensial osmotik medium di sekeliling sel (Turner dan Jones, 1980; Watanabe *et al.*, 2001).

Dengan adanya penyesuaian osmotik tersebut maka memungkinkan suatu tumbuhan yang mengalami cekaman kekeringan dapat mempertahankan supaya stomata tetap terbuka pada level yang dapat ditoleransi, sehingga tetap dapat menyerap CO₂, penting dalam mempertahankan pertumbuhan walaupun mengalami cekaman kekeringan (Cabuslay *et al.*, 1999).

Lintasan biosintesis prolin dapat ditelusuri dari asam glutamat yang dikonversikan menjadi semialdehid dalam dua reaksi yang identik pada lintasan asam aspartat. Siklus aldehyd non enzimatis membentuk D' pirolin-5-karboksilat yang mempengaruhi sintesa prolin. Reaksi enzimatis pada tanaman utuh tidak mudah untuk dideteksi namun diduga lintasan reaksi enzimatis D' pirolin-5-karboksilat reduktase terdapat pada kloroplas. Telah dibuktikan bahwa ornitin merupakan prekursor pembentukan prolin melalui D' pirolin-5-karboksilat atau D' pirolin-2-karboksilat (Lea *et al.*, 1993).

Biosintesis prolin pada tanaman umumnya melalui dua jalur yaitu glutamat dan ornitin (Heuer, 1999). Enzim yang terlibat pada jalur glutamat adalah glutamat - semialdehyde dehidrogenase dan prolin-5-karboksilat reduktase, sedangkan pada jalur ornitin adalah ornitin-R- aminotransferase dan pyrolin- 5-karboksilat reduktase.

Beberapa strategi yang dilakukan oleh jenis tumbuhan yang toleran kekeringan (drought resistant species)

Mekanisme resistensi/ketahanan tumbuhan terhadap kekeringan (drought resistant species) dapat dikelompokkan menjadi tiga kategori yaitu "escape", "avoidance" dan "tolerance". Spesies/varietas tumbuhan yang tahan terhadap kekeringan akan menggunakan lebih dari satu mekanisme (strategi) di atas untuk mempertahankan diri terhadap cekaman kekeringan (Mitra, 2001).

"Escape" didefinisikan sebagai kemampuan tumbuhan untuk menyelesaikan siklus hidupnya sebelum mengalami stres kekeringan yang sangat ekstrim; mekanisme yang biasa dilakukan adalah dengan berbunga dan berbuah lebih awal. "Avoidance" adalah kemampuan tumbuhan untuk menjaga agar potensial air tubuh tetap tinggi (mendekati nilai nol - kurang negatif); yaitu dengan mengoptimalkan sistem perakaran, sehingga dapat meningkatkan kemampuannya dalam menyerap air dalam jumlah relatif banyak serta mempertahankan kandungan air di dalam jaringan (Pugnaire *et al.*, 1999). "Tolerance" meliputi kemampuan suatu spesies/varietas tumbuhan untuk tetap hidup dan tetap melakukan fungsi meskipun mengalami cekaman kekeringan (Mitra, 2001).

Prosedur seleksi dan identifikasi tanaman yang toleran cekaman kekeringan

Keberhasilan pemulia tanaman dalam usahanya untuk mendapatkan tanaman yang tahan kekeringan harus diikuti dengan menguasai metoda seleksi yang efektif sehingga dalam waktu yang singkat dapat diperoleh galur-galur yang tahan (Sammons *et al.*, 1979).

Mengingat mekanisme toleransi terhadap kekeringan dikendalikan oleh banyak (lebih dari satu) gen dan aktivitasnya sangat kompleks maka dalam pemilihan varietas yang tahan kekeringan dapat digunakan beberapa teknik antara lain sebagai berikut: *Penapisan dini menggunakan polyethylene glycol (PEG)*

Karakter fisiologi yang dapat digunakan sebagai penanda bahwa benih yang akan ditanam, toleran terhadap kekeringan adalah kemampuan benih berkecambah pada larutan yang mempunyai potensial osmotik rendah (Richard *et al.*, 1987; Sammons *et al.*,

1979). Bibit atau benih yang terseleksi melalui penapisan menggunakan polyethylene glycol (PEG) dapat tumbuh baik pada cekaman kekeringan di lapangan, seperti padatanaman jagung, boer lovegrass (*Eragostis curvula* Nees) (Sammons *et al.*, 1979) dan padi (Cabuslay *et al.*, 1999; Lestari dan Mariska, 2006). International Rice Research Institute (IRRI) menggunakan larutan PEG dengan potensial osmotik -1,2 MPa pada perkecambahan benih padi untuk mengetahui besarnya daya tumbuh (Seshu dan Sorrells, 1986).

PEG mempunyai sifat dapat mengontrol imbibisi dan hidrasi benih. Selain itu PEG jugadigunakan dalam pengujian ketahanan benih terhadap kekeringan dengan memperhitungkan indeks kekeringan (Nemoto *et al.*, 1995; Bouslama dan Schapaugh, 1984; McDonald *e/a'.*,1988;Casbuslay *etal.*, 1999).

Penggunaan larutan PEG (BM6000 atau 8000) untuk menguji perkecambahan padi dengan -0,2 dan -1,2 MPa telah dilakukan di IRRI (McDonald *et al.*, 1988) pada tanaman padi, dan kedelai oleh Bouslama dan Schapaugh (1984) dengan tegangan osmotik -6 bar (-0,6 MPa). Suardi dan Silitonga (1998) menggunakan PEG 8000 (32,5%, setara dengan- 13,7 bar/ -1,37 MPa) untuk uji toleransi 95 varietas padi lokal terhadap kekeringan; demikian pula Lestari dan Mariska (2006) menggunakan PEG 20% untuk penapisan berbagai somaklon padi hasil seleksi *in vitro* dan telah diperoleh beberapa somaklon yang tahan kekeringan.

Bouslama dan Shcapaugh (1984) mendapatkan benih kedelai yang berkecambah lebih cepat pada larutan PEG dan ternyata mampu menghasilkan akar lebih cepat dan akar yang dihasilkan lebih baik, dibandingkan yang berkecambah lebih lambat. Hasil yang sama didapatkan pula oleh Nemoto *et al.* (1995), Khush (1995) dan Redona dan Machill (1996) pada perkecambahan benih padi. Tanaman yang mampu tumbuh dengan baik pada media yang mengandung PEG 20% mempunyai korelasi positif dengan toleransi kekeringan di lapangan (Ishak, 1999) karenabenih yang dapat berkecambah pada PEG 20% mempunyai vigor lebih besar.

Uji daya tembus akar

Uji tembus akar merupakan salah satu teknik dalam pemuliaan tanaman untuk seleksi pada tingkat bibit. Kemampuan penetrasi akar pada lapisan tanah yang keras (kompak) diakui merupakan cara yang tergolong efektif dalam mengkarakterisasi tanaman yang toleran kekeringan (Hanson *et al.*, 1990).

Pengujian ketahanan kekeringan padatanaman padi dengan melihat kemampuan akar menembus lapisan campuran parafin dan vaslin telah dilakukan oleh Yu *etal.* (1995) di IRRI; Suardi dan Moeljopawiro (1999), Suardi *etal.* (2003) Lestari *etal.* (2005).

Penelitian Suardi dan Moeljopawiro (1999) menunjukkan bahwa varietas padi yang toleran kekeringan seperti Salunpikit dan Kelimutu, akarnya mampu menembus lapisan lilin yaitu campuran parafin 60% dan vaslin 40% setebal 3 mm dengan tingkat

Tabel 1. Nilai skor akar padi yang menembus lapisan media campuran parafin dan vaselin (Suardi dan Moeljopawiro, 1999)

Kekerasan	Ketebalan	Salunpikit		Kelimutu		IR64		Rata-rata	
		42hari	57hari	42hari	57hari	42 hari	57 hari	42 hari	57 hari
K1	T1	2	2	4	4	1	1	2	2
	T2	3	2	3	2	0	1	3	2
	T3	1	1	2	1	0	0	1	1
K2	T1	1	0	1	1	0	0	1	0
	T2	0	0	0	1	0	0	0	0
	T3	0	0	0	0	0	0	0	0
K3	T1	0	0	0	0	0	0	0	0
	T2	0	0	0	0	0	0	0	0
	T3	0	0	0	0	0	0	0	0

Keterangan: K1 = 5 bar, K2 = 12 bar, K3 18 bar, T1= 3 mm, T2 = 4 mm, T3 =5mm.

kekerasan 12 bar. Padi varietas IR64 yang tidak toleran kekeringan, akarnya hanya mampu menembus lapisan lilin dengan kekerasan setara 5 bar (Tabel 1).

Seleksi menggunakan uji tembus akar pada tanaman padi hasil variasi somaklonal (Lestari *et al.*, 2005) didapatkan galur somaklon yang akarnya mampu menembus lapisan lilin di dasar pot dan panjang serta diameternya melebihi tanaman induknya. Galur somaklon tersebut dapat tumbuh baik dibandingkan induknya pada uji cekaman kekeringan yang dilakukan di rumah kaca.

Pengujian tembus akar pada tanaman padi galur F7 hasil persilangan antara IR64 dengan IRAT112 yang dilakukan oleh Suardi *et al.*, 2003 diperoleh 7 galur persilangan yang menunjukkan daya tembus akar relatif sama atau lebih baik dari tetuanya (IRAT 112), apabila dilihat dari jumlah dan panjang akar yang tembus lapisan lilin (Tabel 2). Akar pada IR64 hanya 2 buah yang tembus tetapi pada tujuh belas galur F7 mempunyai

jumlah akartembus yang relatif tinggi (4-11) (Suardi *et al.*, 2003).

Analisis kandungan prolin

Selain dua teknik di atas, analisis kandungan prolin juga merupakan metoda seleksi yang sering digunakan. Pada tanaman yang toleran dan bertahan terhadap kondisi defisit air eksternal meskipun potensial jaringan rendah, terjadi mekanisme mempertahankan turgor agar tetap di atas nol. Hal ini dilakukan untuk menjaga agar potensial air jaringan tetap rendah dibandingkan potensial air eksternalnya sehingga tidak terjadi plasmolisis (Jones and Turner, 1980). Usaha mempertahankan potensial air ini ditunjukkan dengan meningkatnya kadar zat-zat terlarut atau senyawa osmotikum seperti prolin, glisin, betain, gula dan asam-asam organik yang berfungsi dalam proses penyesuaian osmotik (Odeigah *et al.*, 1998; Sun *et al.*, 1999; Dibe/*et al.*, 1994).

Prolin dapat dideteksi hampir pada semua tanaman sereal yang mengalami stres abiotik seperti pada barley (Sing *et al.*, 1973 dalam Dib *et al.*, 1994) juga pada tanaman durum wheat (*Triticum turgidum* L.) (Monneveux and Nemmar, 1986). Prolin adalah asam amino yang bertambah lebih cepat dibandingkan asam amino lainnya dalam jaringan tumbuhan -pada kondisi kekeringan atau kadar garam tinggi. Akumulasi prolin yang terjadi karena dehidrasi yang disebabkan oleh kekurangan air (potensial air yang rendah) atau meningkatnya tekanan osmotik adalah informasi yang berkaitan dengan peranan prolin sebagai agen osmoregulator pada tumbuhan yang mengalami cekaman abiotik (Heuer, 1999).

Analisa kandungan prolin pada tanaman kedelai hasil variasi somaklonal yang dilakukan oleh Husni *et al.* (2004) telah diperoleh beberapa galur somaklon yang kandungan prolannya lebih tinggi dibanding tanaman induknya yang tahan, galur somaklon tersebut juga mampu menembus lapisan pada uji daya tembus akar.

Demikian pula pada penelitian Lestari (2004) menghasilkan galur somaklon pada IR64 dan Towuti yang kandungan prolannya lebih tinggi dibanding tanaman induknya. Galur somaklon yang mempunyai kandungan prolin lebih tinggi tersebut, akarnya mampu menembus lapisan lilin di dasar pot dan berproduksi

Tabel 2. Galur F7 persilangan IR64 x IRAT112 yang mempunyai daya tembus akar relatif tinggi

No	Galur F7	JAT	PjAT	DAT	JAPr	ITA
1	6-3	4	28,0	0,6	21	0,19
2	121-2	4	29,0	0,3	25	0,16
3	146-3	4	30,0	0,3	24	0,17
4	142-1	4	33,0	0,6	24	0,17
5	142-2	4	35,0	0,7	26	0,15
6	119-1	5	25,0	0,7	18	0,28
7	5-3	5	25,0	0,4	29	0,17
8	79-3	5	32,0	0,4	30	0,17
9	5-1	6	20,5	0,6	19	0,31
10	145-3	6	33,5	0,7	21	0,28
11	33-2	7	18,5	0,5	20	0,35
12	89-3	7	19,0	0,6	26	0,27
13	93-3	7	21,0	0,5	23	0,30
14	92-2	7	27,0	0,7	27	0,26
15	86-3	8	12,0	0,6	27	0,29
16	158-3	8	41,0	1,0	22	0,36
17	160-2	11	19,5	0,3	26	0,42
Knt	IR64	2	28	0,6	25	-
	IRAT112	8	25	0,9	19	-

* Panjang akar tembus lilin e" 25 cm, untuk JAT d" 5 dan e" 15 cm untuk JAT

e" 5: JAT = jumlah akar tembus lilin. ITA = indeks tembus akar, PjAT =

panjang akar tembus lilin, DAT = diameter akar tembus lilin.

JAPr =

jumlah akar primer pada media tanah.

lebih baik pada perlakuan cekaman kekeringan di rumah kaca.

Seleksi bertahap terhadap galur-galur somaklon padi hasil variasi somaklonal dan seleksi *in vitro* menunjukkan bahwa seleksi menggunakan PEG, uji tembus akar dan kandungan prolin dapat diperoleh galur somaklon yang dapat berkecambah lebih cepat pada PEG 20%, juga mempunyai akar yang dapat menembus lapisan lilin di dasar pot. Galur-galur somaklon yang dianggap tahan tersebut kandungan prolinnya tinggi dan berproduksi lebih baik dibandingkan tanaman induknya pada uji cekaman kekeringan di rumah kaca (Lestari, 2004).

KESEMPULAN

Seleksi untuk ketahanan kekeringan dapat menggunakan salah satu dari metoda seleksi namun lebih optimal bila dilakukan secara komplementer mengingat mekanisme toleransi terhadap kekeringan dikendalikan oleh beberapa gen, sedangkan masing-masing metoda berlaku untuk ekspresi dari gen tertentu saja.

Polyetilen glycol BM e" 4000 dan konsentrasi e" 20 % merupakan senyawa yang efektif untuk seleksi pada tingkat benih atau fase bibit. Seleksi selanjutnya adalah Uji tembus akar menggunakan lapisan lilin yaitu campuran parafin dan vaslin dengan perbandingan 60%:40% pada ketebalan 3 mm. Selanjutnya berikutnya adalah analisa kandungan senyawa osmoregulator seperti prolin, betain atau gula alkohol.

DAFTAR PUSTAKA

- Allan AC, MD Fricker, JL Ward, MH Beale and AJ Tremawas. 1994. Two transduction pathways mediated rapid effect of abscisic acid in *Commelina* guard cells. *Plant Cell* 6, 1319-1328.
- Bates LS, RP Walden, and ID Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39, 205-207.
- Bandurska H. 2000. Does proline accumulated in leaves of water deficit stressed barley plants confine cell membrane injury? I. Free proline accumulation and membran injury index in drought and osmotically stressed plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 22(4), 409-415.
- Bouslama M and WT Schapaugh. 1984. Stress tolerance in soybean. I. Evaluation on three screening techniques for heat and drought tolerance. *Crop Sci* 24,993-937.
- Blum A. 2004. Toward standard assay of drought resistance in crop plants. In: *Workshop on Molecular Approaches for the Genetic Improvement of Cereals for Stable Production in Water-limited Environments*. CIMMYT. Volcanic Centre. Israel.
- Cabuslay G, O Ito and A Alejar. 1999. Genotypic differences in physiological responses to water deficit in rice. In: O Ito, J O'Toole and B Hardy (Eds.), 99-116. International Rice Research Institute.
- Curtois B and R. Lafitte. 1999. Improving rice for drought-prone upland environments. In: O Ito, J O'Toole, and B Hardy (Eds.). *Genetic Improvement of Rice for Water-limited Environments*, 35—56. International Rice Research Institute.
- Datta SK. 2002. Recent developments in transgenic for biotic tolerance in rice. *JIRCAS Working Report*, 43-53.
- Dib TA, E Monneveux, Acevedo and MM Nachit. 1994. Evaluation of proline analysis and chlorophyll fluorescence sequencing measurements as drought tolerance indicators in Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum). *Euphytica* 79, 65-73.
- Dingkuhn M, RT Cruv, JC O'Toole and K Doerffling. 1991. Responses of seven diverse rice cultivars to water deficit. III. Accumulation of abscisic acid and proline in relation to leaf water-potential and osmotic adjustment. *Field Crops Res.* 11, 103-117.
- Du YC, A Kawamitsu, Nose and S Hiyane. 1996. Effect of water stress on carbon exchange rate and activities of photosynthetic enzymes in leaves of sugarcane (*Saccharum sp*). *AustJ.Plant. Physiol.* 23, 719-726.
- Hanson AD, WJ Peacock, LT Evans, CJ Arntzen and GS Khush. 1990. Drought Resistance in Rice. *Nature* 345,26-27.
- Holmberg N and L Bullock. 1998. Improving stress tolerance by gene transfer *Trends in Plant Science* 3(2).
- Huang B and Y Jiang. 2000. Effect of drought or heat stress alone and in combination on Kentucky Bluegrass. *Crop Sci* 40, 1358-1362.

- Husni A, S Hutami, M Kosmiatin dan I Mariska. 2004.** Pembentukan benih somatik dewasa kedelai dan aklimatisasi serta uji terhadap sifat toleransi kekeringan. *Kumpulan Makalah Seminar hasil Penelitian BB-Biogen*.
- Heuer B. 1999.** Osmoregulatory role of proline in plants exposed to environmental stresses. *In: Perssarakli M (Ed.): Handbook of Plant and Crop Stress*, 675-695. 2nd Revised and Expanded. Marcell Dekker, New York.
- Ishak. 1999.** Uji toleran kekeringan secara *in vitro* dan identifikasi galur mutan padi dengan marka RAPD. *Jurnal Biotek Pertanian* 4(2), 63-66.
- Jensen AB, PK Bush, M Figueras, MM Alba, GR Peracchia- Messeguer, A Goday, and M Pages. 1996.** Drought signal transduction in plants. *Plant Growth Reg* 20, 105-110.
- Jones MM and NC Turner. 1980.** Osmotic adjustment in expanding and fully expanded leaves of sunflower in response to water deficit. *Ausl.J.Plant Physiol.* 7,181-192.
- Khush GS. 1995.** Modern varieties: Their real contribution to food supply and equity. *Geo Journal* 35 (93), 275-284.
- Kramer PJ. 1980.** Plant and Soil Water Relationship. *A Modern Synthesis*. Tata Me Graw-Hill Publ., New York.
- Kirkham MD. 1990.** Plant response to water deficit. *In: BA Steward and DR Nielsen (Ed.)*, 323-342. *Irrigation of Agricultural Crops* Madison, Wisconsin. USA.
- Lakitan B. 1996.** *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. Rajawali, Jakarta.
- Lea J, Leegood and C Richard. 1993.** *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. John Welley & Sons.
- Lestari EG. 2004.** Akumulasi prolin untuk seleksi ketahanan kekeringan pada Tanaman padi hasil seleksi *in vitro*. *Proceeding Seminar Nasional.Perhimpunan Bioteknologi Indonesia*. Malang 12-13 April.
- Lestari EG 2005.** Seleksi *In vitro* untuk ketahanan terhadap kekeringan pada tanaman padi. *Thesis S3*. Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Lestari EG, E Guhardja, S Harran dan I Mariska. 2005.** Uji daya tembus akar untuk seleksi somaklon toleran kekeringan pada padi varietas Gajahmugkur, Towuti dan IR64. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 24(2), 97-103.
- Lestari dan Mariska.2006.** Identifikasi Somaklon Padi Gajahmungkur, Towuti danIR 64 Tahan Kekeringan Menggunakan Polyethy'lene Glycol. *Bulletin Agronomi XXXIV (2)* 71-78.
- Mackill DJ, WR Coffman and DP Garity. 1996.** *Rainfield Lowland Rice Improvement*. IRRI, Los Banos, Philippines.
- Makarim AK. 2005.** Cekaman abiotik utama dalam peningkatan produktivitas tanaman. *Makalah dalam Seminar Pemanfaatan Bioteknologi untuk Mengatasi Cekaman Abiotik pada Tanaman*. BB Biogen. Bogor, 22 September.
- McDonald MB, CW Vertucci and EE Ross. 1988.** Soybean seed inhibition water absorption by seed parts. *Crop Sci* 28(6), 933-997
- Mitra J. 2001.** Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop *Plants Current Science* 80 (6), 758-763.
- Monneveux P and M Nemnar. 1986.** Contribution A'l'etude de la Resistance A' Lase'cheresse Chez le Ble' Tendre (*Triticum aestivum* L.) et Ches le Ble' Dur (*Triticum durum* Desf): E'tude de L' accumulation de la Proline Aucours du Cycle de Development. *Agronomies* 6(16), 583-590.
- Nemoto K, S Morita and T. Bada. 1995.** Shoot and root development in rice related to the phylocron. *Crop Sci* 35, 24-29.
- Nguyen HT, RC Babu and A Blum. 1997.** Breeding for drought resistance in rice physiology and molecular genetic consideration. *Crop Sci* 2*1,1426-1434.
- Odeigah PGC, AO Osanyinpejuz and GO Myers. 1998.** Induced Mutations *In: Cowpea Vigna unguiculata* (Leguminous). <http://vwww.eeogle.com/ODEIGAH>
- Olson M, K Nilson, C Liljeborg and GAR Hendry. 1996.** Drought stress in seedling: Lipid metabolism and lipid peroxidation during recovery from drought in *Lotus Corniculatus* and *Cerastium Fontanum*. *Physiologia Plantarum* 96, 577-584.
- Pugnaire FI, L Serrano and J Pardos. 1999.** Constraints by water stres on plant growth. *In: M Pessarakli (Ed.)*. *Handbook of Plant and Crop Stress*, 271-

283. 2nd Revised and Expanded. 2nd. Marcell Dekker, New York.
- Redona ED and DJ Mackill. 1996.** Genetics variation for feeding vigor traits in rice. *CropSci* **36**, 285-290.
- Richards RA, CW Denett, CO Qualset, E Edstein, JD Norlyn and MD Winslow 1987.** Variation in yield of grain and biomass in wheat, barley and *Triticale* in salt-affected field. *Field Crops Res.* **15**,277.
- Rutger JN and DJ Mackill. 2001.** Application of mendelian genetics in rice breeding. In: GS Khush, DS Brarand Hardy (Eds.). *Rice Genetic*, 27-38. IRRI, Manilla.
- Sacks MM, WK Silk and P Burman. 1997.** Effect of water stress on cortical cell division rates within the apical meristem of primary roots of maize. *Plant Physiol.* **114**,519-527.
- Sammons DJ, DB Peters and Hymowitz. 1979.** Screening soybeans for drought resistance. II. Drought box procedure. *Crop Sci* **19**, 719-722.
- Setiawan K. 1998.** Study on varieties differences of drought tolerance in peanut. *Thesis University of Agriculture*, Tokyo.
- Seshu DV and ME Sorrells. 1986.** Genetic studies on seed dormancy in rice. In: Rice Genetics IRRI, Manilla.
- Suardi D. 1988.** Pemilihan varietas padi tahan kekeringan. *J Litbang Pertanian*. *Wl*(/), 1-9.
- Suardi D dan TS Silitonga. 1998.** Uji toleransi kekeringan plasma nutfah padi dengan menggunakan larutan polyethylene glycol (PEG) 8000. Dalam: *Prosiding Temu Ilmiah Bioteknologi Pertanian*. S Moeljopawiro, M Machmud, L Gunarto, I Mariska dan H Kasim. (Ed.). Balitbio Tanaman Pangan.
- Suardi D dan S Moeljopawiro. 1999.** Daya tembus akar sebagai kriteria seleksi ketahanan kekeringan pada Padi: I. Pengaruh tingkat kekerasan dan ketebalan lapisan media campuran parafin dan vaselin terhadap daya tembus akar. *PP Tanaman Pangan* **18**, 29-34.
- Suardi D. 2001.** Pemilihan galur padi toleran kekeringan berdasarkan uji daya tembus akar dan hasil gabah. *Berita Puslitbangtan* **20**, 4-5.
- Suardi D, E Lubis dan S Moeljopawiro. 2003.** Uji rumah kaca untuk toleransi terhadap kekeringan padi populasi F7 Persilangan IR64 x IRAT 112 (Gajah Mungkur). *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan Bioteknologi Tanaman*, 23-24 September.
- Sun W, Q Yang, J Zhang, T Zhang and Z Yun. 1999.** Assessment on drought tolerance of *Eruca sativa* genotypes from Northwestern China. *Proceeding in the 10th International Rapeseed Congress*, Canberra, Australia.
- Turner NC and MM Jones. 1980.** Turgor maintenance by osmotic adjustment: A review and evaluation. In: NC Turner and PJ Kramer (Eds). *Adaptation of Plant to Water and High Temperature*, 87-103. New York.
- Watanabe S, K Kojima, Y Ide and S Sasaki. 2001.** Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus Euphratica* *In vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **63**, 199-206.
- Yamaguchi-Shinozaki K, M Kasuga, Q Liu, K Nakhashima, Y Sakuna and H Abe. 2002.** Biological mechanism of drought stress response. In: *Genetic Engineering of Crop Plant for Abiotic Stress*. *JIRCAS Working Report* **23**, 1-8.
- Yu LA, JD Ropy, JC O'Toole and HT Nguyen. 1995.** Use of wax- petrolatum layers for screening rice root penetration. *Crop Sci.*, 684-687.