

Pemuliaan dan Pengembangan Benih Tanaman Pangan Menuju 2025, Peran Praseleksi Kultur Jaringan dan Benih Apometik

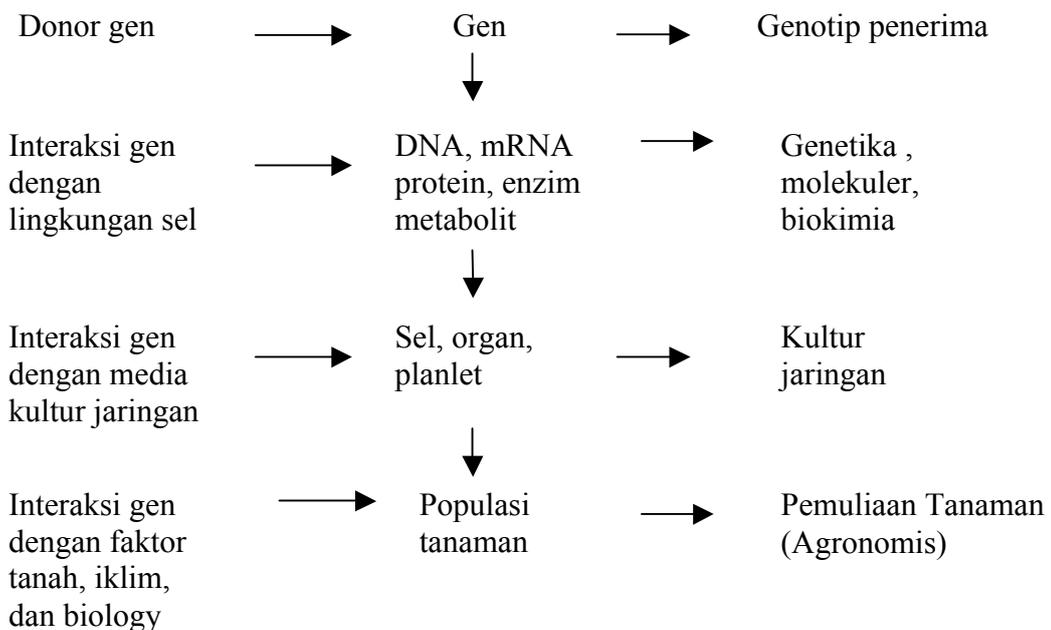
G.A. Wattimena

1.0. Pendahuluan

- Sumber pangan karbohidrat dunia nomor 1 sampai no.4 secara berurutan adalah padi, gandum, jagung dan kentang.
- Sumber pangan utama Indonesia adalah beras dengan konsumsi per kapita per tahun adalah 139.15 kg dibandingkan dengan dunia, Jepang, Malaysia dan Thailand secara berurutan adalah 57, 60, 80, 90 kg/kap/thn.
- Pada tahun 2020-2025 penduduk Indonesia mencapai 273.22 juta jiwa dan kebutuhan bersa akan mencapai 38.02 juta ton.
- Pertanian tanaman padi akan bergeser dari tanah non sawah dan menghadapi kendala-kendala iklim dan tanah marjinal dan sub marjinal.
- Diperlukan metoda pemuliaan dan propagasi tanaman yang menjamin percepatan proses pemuliaan dan pelestarian benih bermutu.
- Percepatan pemuliaan melalui praseleksi (tekanan seleksi) diberikan pada tingkat tanaman kultur jaringan, sedangkan pembentukan benih apomiktik untuk menjamin Varietas Unggul Lestari (VUL) seperti inbrida lestari dan hibrida lestari.

2.0. Dasar Pemikiran

- Dogma genetik adalah DNA – mRNA – Kultivar – Benih bermutu.
- Fenotip adalah interaksi genotip dan lingkungan itu mulai dari proses translasi dari gen, lingkungan kultur jaringan dan lingkungan lapang.



- Metoda pemuliaan tanaman pada saat ini mulai dari molekuler sampai ke tingkat genetik (fenotip ke genotip) dan reverse genetik (genotip ke fenotip). Pemulia tanaman harus mengetahui secara holistik metoda-metoda pemuliaan tanaman tersebut.
- Metoda pemuliaan tanaman tergantung pada sumber keragaman dan sifat tanaman penerima.

No	Sumber Keragaman	Sifat Tanaman Penerima	Metoda Pemuliaan
1.	Tanaman itu sendiri	Tanaman perbanyak klonal	Mutasi buatan
2.	Tanaman itu sendiri	Dapat diregenerasi secara <i>in vitro</i>	Keragaman somaklonal
3.	Kerabat dekat sampai jauh	Dapat diregenerasi secara <i>in vitro</i>	Fusi protoplas dan mikro protoplas
4.	Tanaman, non tanaman konstruk gen	Dapat ditransformasi dan diregerasi secara <i>in vitro</i>	Transformasi tanaman
5.	Kerabat dekat-jauh	Dapat berbunga, serbuk fertil dan dapat disilangkan	Hibridisasi seksual

- Benih bermutu adalah propagul genotip atau propagul vegetatif yang murni, *true to type* dan bebas dari penyakit. Perbanyak klonal secara terus menerus akan meningkatkan kontaminasi penyakit menyebabkan kemunduran mutu benih. Kultur jaringan tanaman dan biji klonal dapat menjamin kebebasan penyakit dari bibit klonal.

3.0. Praseleksi pada tingkat kultur jaringan

Pada proses pemuliaan untuk pencapaian tujuan pemuliaan yang berhubungan dengan cekaman abiotik dan biotik dapat diseleksi pada tingkat planlet (tanaman kultur jaringan). Cekaman, faktor-faktor abiotik (keracunan Al, salinitas, dsb) dan biotik (penyakit yang disebabkan oleh cendawan, bakteri, nematoda) dapat dilakukan pada tingkat tanaman kultur jaringan.

Praseleksi harus didahului dengan mengkorelasikan percobaan di rumah kaca (y) dan percobaan di kultur jaringan (x). Jika persamaan regresinya telah teruji maka selanjutnya percobaan kultur jaringan digunakan menduga percobaan di rumah kaca/ lapang. Praseleksi laboratorium lebih mudah dikendalikan, cepat dan aman.

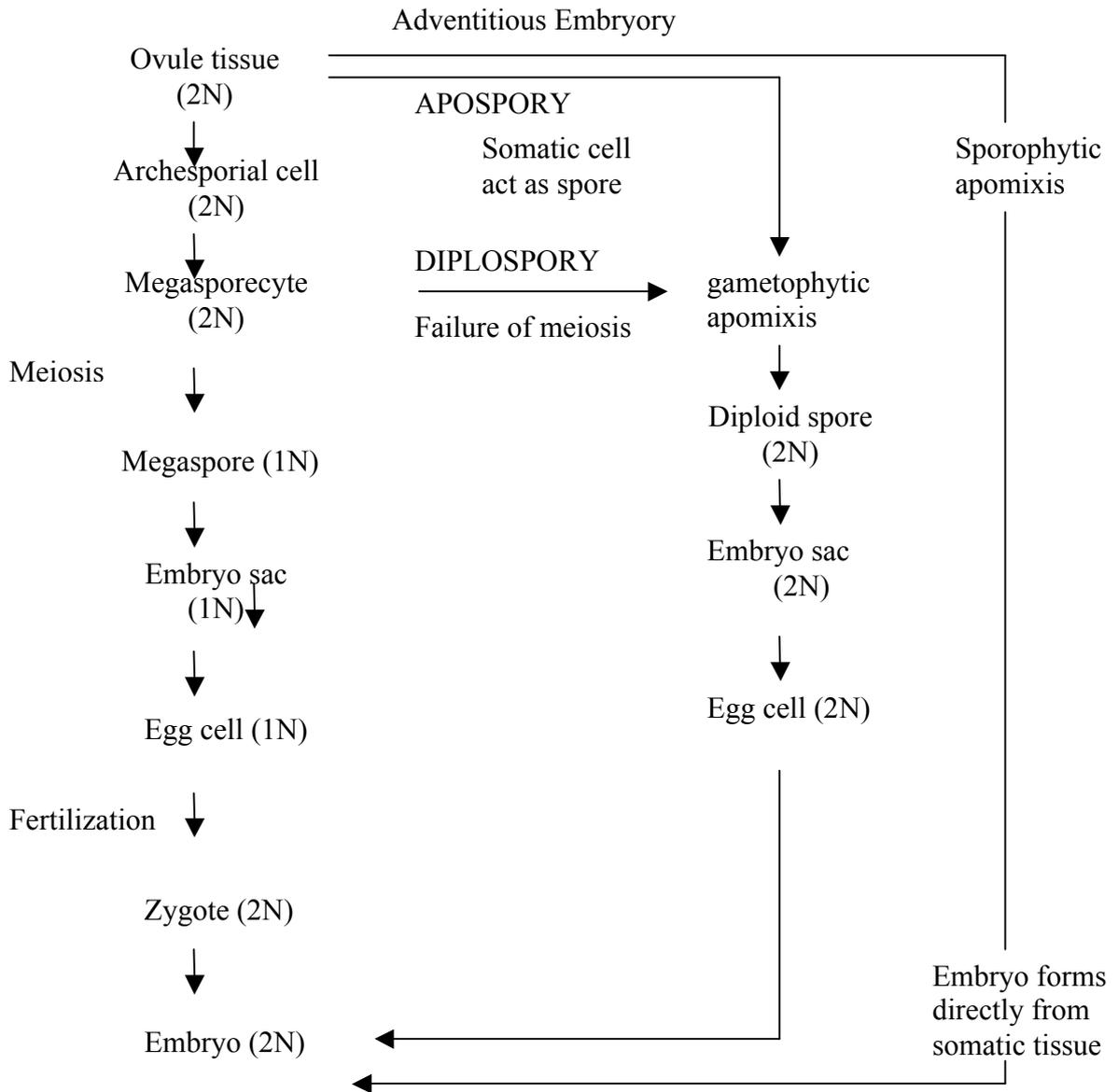
Pada tanaman kentang percobaan kultur jaringan telah digunakan untuk menduga ketahanan lapang dari penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) dan penyakit hawar daun (*Phytophthora infestans*). Praseleksi di kultur jaringan tidak dapat digunakan untuk pendugaan produksi. Percepatan pemuliaan tanamn juga dapat dilakukan melalui metoda *Single Seed In Vitro Clonal Descend* (Wattimena *et al*, 2001). Setiap biji hasil silangan diperbanyak secara *in vitro* klonal sesudah itu baru diberi tekanan seleksi sesuai tujuan pemuliaan.

4.0. Benih apomiktik (gambar1.0)

Benih apomiktik juga disebut biji klonal atau biji tanpa seks, karena biji apomiktik adalah biji tanpa penyatuan gamet (pembuahan). Pada tanaman terdapat 3 jenis apomiktik yaitu :

- (1) Diplospori apomiktik : tidak terjadi meiosis dan tidak terjadi pembuahan, terbentuk kantung embrio 2N, sel telur (2N) dan embrio (2N).
- (2) Apospori apomiktik : kantong embrio (2N) berasal langsung dari sel nuselus, selanjutnya membentuk sel telur (2N) dan embrio (2N).
- (3) Sporofitik apomiktik (embrio adventif 2N), embrio 2N terbentuk langsung dari sel nuselus tanpa pembentukan kantung embrio.

Gambar 1.0. Jalur Pembentukan Embrio Seksual dan Embrio Apomiktik pada Tanaman Angiospermae



4.1. Keunggulan Benih Apomiktik

Benih apomiktik memiliki keunggulan baik dari propagul klonal maupun propagul benih keunggulan propagul klonal adalah genotip yang stabil, fenotip seragam dan umur juvenil yang pendek. Keunggulan dari propagul benih adalah bebas penyakit sistemik, produksi mudah, perancangan mudah dan relatif lebih murah dibandingkan dengan propagul klonal.

Keuntungan benih apomiktik atau klonal adalah :

1. Produksi benih mudah dan murah
2. Menjamin benih yang seragam dan stabil tanpa penyerbukan. Benih inbrida dan hibrida F1 dapat ditanam secara terus menerus tanpa segregasi dan penurunan hasil (F1 hibrida lestari dan Inbrida lestari). Tanaman perkebunan yang biasa ditanam dengan benih seperti kelapa, kelapa sawit, coklat dan kopi akan menghasilkan tanaman klonal yang seragam dan berbuah lebih awal.
3. Pada tanaman serealia, polong-polongan, kelapa sawit, dsb dimana produksi tergantung dari kesuksesan penyerbukan dan pembuahan akan berproduksi maksimal. Tidak ada gabah hampa pada padi, tongkol ompong pada jagung dan tandan kosong pada kelapa sawit.
4. Pada tanaman yang diperbanyak secara klonal seperti singkong, ubi jalar, talas, kentang, karet, tebu, mangga, duren, dsb, dapat diperbanyak dengan biji klonal. Hemat didalam penggunaan propagul, bebas penyakit sistemik, cepat berproduksi, mudah dalam produksi, penyimpanan dan transportasi.
5. Transformasi dengan gen apomiktik menjamin keamanan hayati dan keamanan pangan asal marka seleksi antibiotika dan herbisida diganti dengan marka pmi (*phospho manase isomerase*) atau gfp (*green florescence protein*)

Benih apomiktik dapat memacu kemandirian pemakaian benih unggul bermutu dan kenaikan produksi. Contoh pada tanaman kentang : Penggunaan bibit non sertifikat produksi kentang rendah 10-12 ton/ha, penggunaan bibit sertifikat G4 dapat meningkatkan hasil dua kali lipat (20-25 ton/ha). Produksi benih kentang bersertifikat G4 di Indonesia baru mencapai 4.5% dari kebutuhan bibit 124 000 ton/thn. Kebutuhan bibit kentang G4 per hektar 1.5-2.0 ton. Dengan benih apomiktik dibutuhkan 200 gram yang dihasilkan oleh 5-10 tanaman kentang. Benih apomiktik hasilnya tinggi dapat mencapai 20-25 ton/ha. Dengan benih kentang bermutu dalam waktu 2-3 tahun.

4.2. Sumber Genom Apomiktik

Survei pustaka oleh Richard (1997), Powel (1998) dan Asin *et al* (2000) dapat dirangkum sebagai berikut :

1. Sifat apomiktik terdapat pada 400 spesies tanaman angiosperma dari 35 marga. Pada marga *Compositae*, *Graminae*, dan *Rosaceae* hanya terdapat diplospori dan apospori apomiktik dan tidak terdapat sporofitik apomiktik hal sebaliknya terdapat pada marga *Rutaceae* dan *Liliaceae*. Apospori apomiktik terdapat pada 14 genus (*Poa*, *Panicum*, *Paspalum*, dsb), diplospori apomiktik 14 genus (*Rubus*, *Taraxacum*, *Trypsaceum*, dsb) dan sporofitik apomiktik 11 genus (*Citrus*, *Mangifera*, *Syzygium*, dsb).
2. Genus yang memiliki apospori dan diplospori apomiktik umumnya bersifat poliploidi dan apomiktik bersifat absolut, sebaliknya pada sporofitik adalah diploid dan apomiktik bersifat fakultatif (poliembrio = embrio seksual + embrio apomiktik)

3. Pada apospori dan diplospori, apomiktik ditentukan oleh 2 gen yang bersifat komplementer atau epistasis. Pada genus *Pennisetum* dan *Cenchrus* terdapat 2 gen (lokus) yaitu A untuk apomiktik dan B untuk seksual dan epistasis terhadap A, sehingga genotip AAbb dan Aabb adalah apomiktik. Pada *Tripsacum dactyloides* lokus pembawa diplospori apomiktik terdapat pada kromosom 16. Rusia telah berhasil menyilang jagung dan *Tripsacum* yang menghasilkan hibrida amphidiploid (20 kromosom jagung dan 36 kromosom *Tripsacum*). Dari turunan amphidiploid ini telah dirakit jagung apomiktik di USA (USDA – ARS).
4. Pada jeruk (*C. Vulkameka*, *P trifolata*) terdapat marka molekuler ERS, E9P₄₇, TAA₅₂ yang terpaut (kosegragasi) dengan gen Apo 3, Apo 5, dan Apo 6.
5. Gen apomiktik pada jeruk dikendalikan oleh fitohormon (ABA, etilen, giberelin, auksin dan sitokinin). Kadar fitohormon rendah mendorong embrio apomiktik dan sebaliknya embrio seksual.

4.3. Penelitian apomiktik dari segi IPTEK menantang tapi mampu dilakukan di INDONESIA mengingat :

1. Tenaga pemulia di Indonesia mulia dari konvensional, seluler dan molekuler memadai secara kuantitatif dan kualitatif. Indonesia dapat bekerja sama yang saling menguntungkan dengan tim *Apomictic Corn Project*, USA. B.Kindinger USDA-ARS, Woodward, OK 73801 (bkindengen@ag.goopsims@ag.gov.lt.)
2. Indonesia kaya akan sumber tanaman apomiktik terutama sporofitik apomiktik yang belum dimanfaatkan secara baik. Contoh genera sporofitik apomiktik yang terdapat di Indonesia *Mangifera* (Mangga, kuini), *Citrus* (jeruk keprok, siem, Bali), *Syzygium* (cengkeh, jambu bol, dsb), *Lansium* (duku, langsung), *Shorea*, *Hopea*, *Dipterocarpus*. Disamping itu genus *Paspalum* (apospory) dan *Rubus* (diplospori). *Rubus spp* adalah semak yang berbuah seperti blackberry atau raspberry terdapat diseluruh kepulauan di Indonesia mulai dari dataran rendah sampai dataran tinggi (0-3000 mdpl).
3. Proses apomiktik dapat dilakukan dengan menginaktivasi gen-gen penyandi proses meiosis dan fertilisasi (pembuahan).
4. Induksi mutan apomiktik dapat dilakukan dengan EMS dan T-DNA pada tanaman mandul jantan atau yang dikastrasi pada tanaman padi, jagung, tembakau dan kentang. Insersi T-DNA dapat dilakukan secara *in vivo* atau *in vitro*. Biji yang dihasilkan dapat dikarakterisasi dengan marka molekuler. Mutan EMS dengan marka MITE, SNP_s (TILLING) dan TAIL PCR (BLAST) untuk mutan insersi T-DNA.
5. Hibridisasi seksual dan somatik (asexual) antara jagung dengan *Tripsacum*.
 - (a) Jagung (JJ) x *Tripsacum* (TT) → TJ (2x) → TTJJ (amphidiploid). Gandakan JJJ x TTTT → TTJJ (amphidiploid). Amphidiploid TTJJ yang apomiktik disilang balik dengan jagung, sehingga mendapat jagung yang apomiktik. Melacak kromosom atau segmen kromosom yang membawa gen apomiktik dapat dilakukan dengan marka FISH – GISH dan FISH – rDNA (45SR – DNA, 5SR – DNA).

- (b) Fusi protoplas jagung dengan mikroprotoplas *Tripsacum*
Fusan menghasilkan jagung aneuploida, kemudian fusan-fusan itu diseleksi untuk jagung apomiktik deteksi kromosom *Tripsacum* yang membawa gen apomiktik dilakukan dengan FISH – rDNA. Menghasilkan tanaman jagung apomiktik cara fusi protoplas jagung dan mikro protoplas *Tripsacum* adalah cara mudah untuk dilakukan.
6. Data dasar *genomic* dan pustaka *genomic* Arabidopsis (AATDB, Arabidopsis, Genome Initiative 2000) terutama marka molekuler (SPLINOZZLE) dan gen-gen FIS yang berhubungan langsung dengan pembentukan biji seksual dan aseksual dapat digunakan untuk melacak gen homolog pada tanaman lain. Sifat gen pada umumnya konservatif, termasuk gen-gen apomiktik.

BERCERMINLAH PADA GOLDEN RICE

- Proses konstruksi gen-gen dan promotor yang rumit untuk memnidahkan seluruh jalur MVA sampai tetraterpeness/ caratenoid (MVA – C5 – C10 – C20 – C 40) ke endosperm padi.
- Pada tahun 2002 Tim Golden Rice telah memproduksi IR64 Golden Rice, kerja keras dalam jangka waktu 10 tahun (1991 – 2002)

Golden Rice didukung oleh 4 PILAR

1. Humanitarian Board
Pemerintah Swasta
Ketua : Prof. Dr. Ingo Potrykus
Wakil : Prof. Dr. Peter Bayer
Sekretaris : Dr. Adrian Dubock (Syngenta)
2. Penyandang Dana
 - (1) Rockefeller Foundation (1991 – 2002)
 - (2) The Swiss Federal Institute of Technology (1993 – 1996)
 - (3) The European Union, European Community Biotech Program (1996 – 2000)
 - (4) The Swiss Federal office for Education
3. Tim Riset Isolasi dan Konstruksi Gen
Ketua : Prof. Dr. Peter Bayer
Centre of Applied Bioscience
University of Freiberg, Germany
4. Tim Riset Transformasi
Ketua : Prof. Dr. Ingo Potrykus
Institute of Plant Science
Swiss Federal Institute of Technology (ETH) Zurich, Switzerland.

Pustaka :

1. Asins M. T., Garcia M. R., Ruih. C. Carbonell E. A. 2002. Molecular marker for genetics analysis of apomixes. Di dalam : Jain S. M, Brar s, Ahloowalia B. S editors : Molecular Tehnique in Crop Improvement. Dordrecht Kluwer Academic Publisher
2. Howell S. H. 1998. Molecular Genetics of Plant Development Cambridge, Cambridge University Press.
3. Richard A. J. 1997. Plant Breeding System. London. Chapman and Hall.