

# Paradigma Baru Pengendalian Wereng Batang Coklat (*Nilaparvata lugens* Stål.): Endosimbion sebagai Sasaran

Mohammad Iman dan Tri Puji Priyatno

Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor

## ABSTRACT

Biotype changes of brown planthopper (BPH) are still interesting phenomena to be studied to develop new pest management strategy. Quick biotype changes are due to strong virulent reaction among single biotype or between various biotypes. The pest management strategies to delay the biotype changes are through gene for gene interaction by developing polygenetic resistant varieties or through rotation of various resistant varieties. This strategy is quite effective, however we have to race with the quick changes of BPH biotypes, which are difficult to detect. These changes are due to the ability of the BPH to adapt on the new resistant variety. BPH normally harbor yeast like intracellular symbionts (YLS). This YLS of BPH belong to the class Pyrenomyces in the subphylum Ascomycotina. The endosymbionts play a pivotal role in nitrogen metabolism in BPH and provide essential dietary factors. YLS also play an important role in virus transmission by BPH. By suppressing the development of YLS, the pest management strategy is not only effectively control the BPH, but also delay the virus transmission. Interaction between BPH and YLS will produce specific substance, which could be used to develop new method of early biotype detection.

**Key words:** Brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål, biotype, endosymbionts, yeast like symbiont

Wereng batang coklat (WBC), *Nilaparvata lugens* Stål., pertama kali dilaporkan sebagai hama pada tanaman padi di Indonesia pada tahun 1854 oleh Stål (Mochida *et al.*, 1977). Serangannya mulai meningkat secara drastis setelah penanaman kultivar padi PB5, Pelita I-1, dan C4 pada tahun 1971-1974 (Hanarida, 1998). Ledakan WBC terjadi pada tahun 1979 yang menimbulkan kerusakan tanaman padi seluas 794.650 ha (Baehaki, 1986). Serangannya baru dapat ditekan setelah diberlakukan program pengendalian hama terpadu pada tahun 1986 (Oka dan Bahagiawati, 1987). Meskipun saat ini serangan WBC hanya bersifat sporadis di daerah-daerah endemis, tetapi bahaya ledakannya harus tetap diwaspadai karena WBC termasuk serangga bertipe r-strategis (Baehaki, 1986). Serangga dengan

tipe ini dicirikan oleh sifatnya yang mobil, daya adaptasinya cepat, dan perkembangan populasinya tinggi (Southwood, 1977). Kebijakan pola tanaman yang intensif untuk memacu produksi padi, diduga akan memicu perkembangan populasi WBC yang cepat, karena pada tahun 1997/98, luas tanaman padi di pulau Jawa yang terserang WBC sudah mencapai 100.000 ha (Baehaki, 1998).

Fenomena yang menarik dalam interaksi antara WBC dengan varietas padi adalah munculnya biotipe, yaitu strain WBC yang telah beradaptasi secara fisiologi atau genetis pada varietas tertentu. Menurut Claridge dan Den Hollander (1983), perubahan biotipe yang cepat disebabkan oleh adanya variasi virulensi yang tinggi dalam populasi WBC, baik dalam satu biotipe maupun antar biotipe. Karakteristik virulensi suatu biotipe dapat berubah menjadi biotipe yang baru setelah dipe-

lihara pada varietas yang berbeda selama delapan generasi. Karakter biotipe tidak dapat dibedakan melalui pengamatan morfologi (Claridge dan Den Hollander 1983), teknik isozyme (Den Hollander, 1989), maupun RAPD-PCR (Shuran dan Whalon, 1995). Oleh karena itu, biotipe tidak dapat digolongkan menjadi subspecies tersendiri seperti yang diungkapkan oleh Saxena dan Barrion (1985).

Selama ini, strategi untuk mengatasi perubahan biotipe WBC yang cepat dilakukan melalui pendekatan konsep *gene-for-gene interaction*.

Pengembangan varietas tahan yang bersifat poligenik lebih diprioritaskan daripada ketahanan monogenik. Terbukti dari dua varietas IRRI, PB42, dan IR64, yang mempunyai ketahanan moderat dengan sejumlah gen minor di samping satu gen mayor, mampu bertahan lebih lama terhadap serangan WBC di lapangan daripada varietas-varietas yang bersifat monogenik (Hanarida, 1998). Tetapi pada tahun 1986, ketahanan PB42 patah oleh populasi wereng coklat di Sumatera Utara dan Aceh dan populasi WBC yang menyerang IR64 juga sudah muncul di Jawa Barat serta Jawa Tengah (Baehaki, 1998). Artinya, pendekatan konsep *gene-for-gene interaction* melalui pengembangan varietas harus selalu berpacu dengan perkembangan biotipe WBC yang baru, sedangkan pengembangan varietas yang bersifat poligenik bukan hal yang mudah.

Menurut Buchner (1965), kemampuan serangga untuk beradaptasi secara luas pada sejumlah varietas tanaman tidak terlepas dari peran endosimbion yang ada di dalam tubuhnya. Hampir semua serangga Homoptera, termasuk WBC, bersimbiosis dengan endosimbion untuk memenuhi kebutuhan asam

amino esensialnya yang tidak ada di dalam makanan, karena cairan tanaman yang dihisap oleh WBC pada umumnya mempunyai ketidak seimbangan asam amino (Douglas, 1989; Baumann *et al.*, 1995). Endosimbion juga dapat mensuplai kebutuhan vitamin inangnya (Koch, 1960; Dadd, 1985; Ishikawa, 1989). Menurut Ishikawa (1989), di samping peranan dalam mensuplai nutrisi, endosimbion juga mempunyai peran yang bersifat genomik seperti halnya mitokondria atau kloroplas.

Tulisan ini membahas tentang simbiosis WBC, peran fisiologi, dan strategi pengendalian WBC dengan sasaran simbiosis.

### ENDOSIMBION WERENG BATANG COKLAT

Selain Homoptera, serangga-serangga yang mempunyai endosimbion di dalam tubuhnya berasal dari ordo Dictyoptera, Hemiptera, Phthiraptera, dan Coleoptera, beberapa juga dari Diptera dan Hymenoptera (Tabel 1). Mereka biasanya memakan makanan dengan kadar nutrisi rendah. Endosimbion pada WBC adalah organisme eukariotik yang dikenal sebagai *yeast-like symbiont* (YLS)

(Noda, 1977; Noda dan Saito, 1979). Pada beberapa serangga, endosimbionnya dapat berupa organisme prokariotik yang bersifat obligat (Douglas, 1989). YLS tidak bersifat obligat sehingga dapat dipelihara pada media buatan (Nasu *et al.*, 1981). Berdasarkan studi molekuler yang dilakukan oleh Noda *et al.* (1995), YLS digolongkan dalam kelas Pyrenomyces subfilum Ascomycotina. YLS berada di dalam sel telah mengalami diferensiasi untuk tempat hidup simbiosis yang disebut dengan misetosit (Noda 1977; Noda dan Saito 1979). Letak misetosit berbeda-beda antar-spesies serangga, bisa di dalam saluran pencernaan, hidup bebas di dalam haemocoel, atau di dalam badan lemak serangga (Douglas 1989). Menurut Lee dan Hou (1987), sel misetosit pada WBC berada di dalam badan lemaknya.

YLS selalu ada di semua stadium perkembangan WBC dan diturunkan dari satu generasi ke generasi berikutnya melalui telur oleh betinanya (Chen *et al.*, 1981a). Ini dibuktikan oleh Lee dan Hou (1987) dalam penelitiannya yang mengawinkan WBC normal dengan jantan tanpa

YLS atau sebaliknya. Pada perkawinan antara betina normal dengan jantan normal atau tanpa YLS, telur-telur yang dihasilkan bersifat normal dan mengandung YLS pada bagian posterior telurnya. Tetapi pada perkawinan antara betina tanpa YLS dengan jantan normal atau tanpa YLS, semua telur yang dihasilkan tidak mengandung YLS dan tidak dapat menetas.

Proses pemindahan YLS ke dalam telur terjadi pada waktu pembentukan telur (Noda, 1977). YLS bergerak dari misetosit ke sel *epitelial plug* dan masuk ke *ovariole* melalui *epitelial plug* yang terletak antara *vitellarium* dan *pedicel*. YLS menginfeksi oosit dari bagian kutub posterior dan membentuk *symbiote ball*. Penetrasi YLS ke dalam oosit terjadi sebelum proses penimbunan kuning telur (*yolk*) (Chen *et al.*, 1981b), karena YLS mempunyai peran yang sangat signifikan dalam sintesis *yolk* (Lee dan Hou, 1987). Pada saat telur diletakkan, posisi *symbiote ball* ada pada bagian posterior telur, tetapi dua hari setelah peletakan telur, *symbiote ball* ada pada bagian anteriornya, kemudian kembali lagi mengikuti perkembangan embrionya (Noda, 1977). YLS masuk ke lemak tubuh bagian perut WBC melalui bagian posterior telur.

Berbeda dengan endosimbion pada aphid, YLS tidak rentan terhadap antibiotik (Chen *et al.*, 1981a; 1981b). Studi penghilangan YLS dari tubuh wereng coklat biasanya dilakukan dengan perlakuan panas. Nimfa instar pertama yang diinkubasikan pada suhu 32°C selama 3 hari akan kehilangan sejumlah besar YLS dari tubuhnya. Lee dan Hou (1987) juga pernah menggunakan lisozim untuk menghilangkan YLS pada WBC tetapi hasilnya kurang memuaskan. Peran YLS dalam telur WBC juga dapat dihambat

**Tabel 1.** Endosimbion pada serangga

Serangga	Mikroorganisme
Kecoa	Flavobacteria
Heteroptera	
Cimicidae	Bacteria
Lygaeidae	Bacteria
Homoptera	- $\gamma$ -protobacteria pada aphid dan whitefly - $\beta$ -protobacteria pada mealbug - yeast pada WBC - bacteria pada serangga yang lain
Anoplura	Bacteria
Mallophaga	Bacteria
Diptera	
Glossinidae	$\gamma$ 3-protobacteria
Diptera	Bacteria
Pupipera	
Coleoptera	Yeast dan Bacteria
Formicidae	
Camponoti	$\gamma$ 3-protobacteria
Formicini	Bacteria

Sumber: Douglas, 1989

dengan teknik ligasi, yaitu mengikat bagian posterior telur yang ada *symbiote ball*-nya dengan menggunakan nilon agar YLS tidak bergerak.

### PERAN FISIOLOGIS ENDOSIMBION WERENG BATANG COKLAT

Sejumlah studi tentang peran fisiologis endosimbion dalam tubuh serangga menunjukkan bahwa keberadaan endosimbion berimplikasi penting dalam mensuplai kebutuhan nitrogen (N), asam amino, sterol, dan vitamin B. Beberapa nutrisi yang tidak ada dalam makanan dan tidak dapat disintesis oleh serangga juga dapat dipenuhi oleh endosimbion (Buchner, 1965). Mekanisme endosimbion dalam mensuplai kebutuhan N inangnya dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu melalui daur ulang produk N simpanan atau perbaikan komposisi N dalam makanan inangnya (Douglas, 1989). Hipotesis yang menyatakan bahwa endosimbion dapat mengikat N dari udara masih belum terbukti (Smith, 1948).

Menurut Hongoh dan Ishikawa (1997), peran YLS dalam memenuhi kebutuhan N WBC dilakukan melalui daur ulang asam urat. WBC termasuk serangga yang memproduksi asam urat di dalam tubuhnya sebagai produk N simpanan ketika WBC mengonsumsi asam amino berlebihan. Pada saat WBC mengalami defisiensi N, asam urat akan dirombak menjadi amonia yang mudah disintesis menjadi sejumlah asam amino esensial. Untuk me-

ngetahui peran simbiosis dalam daur ulang asam urat ini, Hongoh dan Ishikawa (1997), memelihara WBC normal dan tanpa YLS selama 8 hari pada makanan buatan yang mengandung 400 nM, kemudian dilanjutkan pemeliharaannya pada konsentrasi asam amino 50 nM selama 6 hari. Kandungan asam urat dalam tubuh WBC diamati pada hari ke-0, 8, dan 14 hari. Hasilnya menunjukkan bahwa kandungan asam urat pada WBC normal mengalami peningkatan yang signifikan pada saat dipelihara pada makanan buatan dengan konsentrasi asam urat 400 nM dibandingkan dengan WBC tanpa YLS (Gambar 1). Ini terjadi karena sejumlah besar asam amino pada WBC tanpa YLS dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan N inang yang tidak disuplai oleh YLS. Tetapi pada saat WBC normal dipelihara pada asam amino dengan konsentrasi rendah (50 nM), YLS memobilisasi sejumlah asam urat untuk memenuhi kebutuhan N inangnya, sehingga kandungan asam urat di dalam tubuh WBC normal menurun secara drastis dibandingkan dengan WBC tanpa YLS. Peran yang signifikan dari YLS dalam perombakan asam urat dibuktikan oleh adanya aktivitas tinggi uratase pada WBC normal dibandingkan dengan WBC tanpa YLS. Klon gen uratase dari YLS juga telah berhasil dilakukan oleh Hongoh *et al.* (2000) untuk mempelajari proses virulensinya. Pengaruh nyata dari WBC tanpa YLS pada saat dipelihara pada asam amino dengan konsentrasi rendah (50 nM) adalah tingkat pertumbuhan relatifnya yang menurun drastis dan perkembangan nimfa tidak pernah mencapai stadium imago (Hongoh dan Ishikawa, 1997).

Sejumlah asam urat juga ditemukan di dalam telur WBC. Kandungan tertinggi terjadi pada saat peneluran, kemudian menurun secara bertahap selama perkembangan embrionya (Sasaki *et al.*, 1996). Menurut Lee dan Hou (1987), pemanfaatan asam urat dalam proses perkembangan embrio tidak terlepas dari peran YLS yang diturunkan melalui telur oleh betinanya. Telur yang tanpa YLS menunjukkan perkembangan abnormalitas embrionya dan tidak dapat menetas. Profil elektroforesis dari telur juga menunjukkan bahwa telur tanpa YLS hanya mempunyai dua protein utama, yaitu vitelin (v1 dan v2) dan suatu protein dengan berat molekul 43 kDa, sedangkan pada telur normal mempunyai sejumlah protein minor di samping kedua jenis protein tersebut. Ini membuktikan bahwa pemindahan YLS lewat telur tidak hanya untuk alih generasi, tetapi juga penting dalam mensintesis sejumlah nutrisi untuk perkembangan normal embrio WBC.

Fredenhagen *et al.* (1987) melaporkan bahwa YLS mampu memproduksi antibiotik dalam pemeliharaan di media cair buatan. Antibiotik tersebut diidentifikasi sebagai andrimid ( $C_{27}H_{33}N_3O_5$ ) yang mempunyai struktur dipeptida unik dengan sebuah *polyelen moiety*. Andrimid menunjukkan aktivitas spesifik yang sangat kuat terhadap bakteri patogen tanaman padi *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, tetapi tidak efektif terhadap bakteri gram negatif dan positif dari patogen tanaman lainnya. Artinya endosimbion juga berperan dalam melindungi inangnya terhadap pengaruh negatif patogen dari tanaman inang yang diserangnya.

Endosimbion pada aphid, *Acyrtosiphon pisum*, mensintesis protein spesifik yang disebut dengan simbionin (Ishikawa, 1982). Sintesis simbionin oleh endosimbion terjadi saat berinteraksi dengan inangnya. Pada kondisi *in vitro*, yaitu saat endosimbion diinkubasikan secara tunggal pada media Grace's, simbionin tidak disintesis. Sintesis simbionin sangat sensitif terhadap cloramfenikol dan rifampisin, tetapi tidak terhadap sikloheksamin atau  $\alpha$ -amanitin. Dengan teknik pelabelan menggunakan [<sup>35</sup>S] methionin, Ishikawa (1982) telah mempelajari mekanisme sintesis simbionin dengan cara menginjektikan cloramfenikol, rimfamisin, dan sikloheksamin pada aphid. Setelah diinkubasi selama tiga hari, endosimbion diisolasi dari aphid dan dianalisis sejumlah protein yang disintesis dengan SDS-PAGE. Dari hasil percobaan ini disimpulkan bahwa sintesis simbionin tidak dikendalikan oleh gen dalam genom endosimbion tetapi oleh gen dalam genom inangnya.

Endosimbion pada aphid (*Myzus persicae*), yaitu *Buchnera*, berperan penting dalam proses penularan *potato leafroll virus* (PLRV). Inokulasi PLRV oleh *M. persicae* tergantung pada transfer partikel virus dari saluran pencernaan aphid ke-lenjar saliva lewat haemolim. Sela-ma transfer, konformasi partikel virus distabilisasi oleh protein GroEL yang disintesis oleh *Buchnera*. Bila aphid diberi makanan buatan yang mengandung klortetrasiklin untuk mematikan *Buchnera*, sintesis GroEL terhambat dan PLRV juga tidak bisa ditularkan (van den Heuvel *et al.*, 1994)

#### ARAH DAN STRATEGI PENGENDALIAN WERENG BATANG COKLAT

Penggunaan varietas tahan sebagai salah satu cara pengendalian

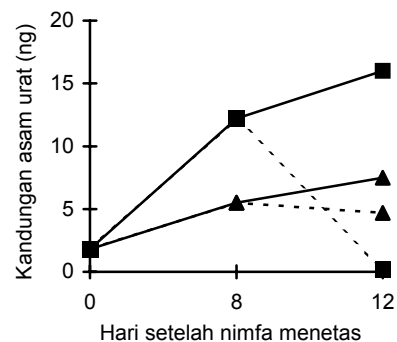
yang paling efektif dalam program PHT WBC selalu dihadapkan pada masalah perubahan biotipe yang cepat. Sedangkan pola pergiliran varietas yang dijadikan strategi untuk mengatasi perubahan tersebut masih belum didukung oleh metode deteksi biotipe yang cepat dan akurat. Ini menyebabkan perkembangan biotipe baru tidak bisa dideteksi dan diantisipasi secara dini. Kemunculan biotipe baru selalu dilaporkan setelah ketahanan suatu varietas patah. Identifikasi biotipe yang dianggap cukup akurat masih menggunakan uji varietas diferensial. Pengembangan deteksi biotipe dengan teknik isozym dan RAPD-PCR sebenarnya sudah dilakukan, tetapi hasilnya belum memuaskan, karena kedua teknik tersebut tidak menghasilkan pola yang spesifik antar biotipe yang dianalisis.

Dalam pengembangan metode deteksi biotipe WBC yang selama ini dilakukan, para entomolog masih melihat fenomena perubahan biotipe hanya dari sisi serangganya saja. Interaksi antara WBC dengan simbionnya belum banyak diteliti. Padahal perubahan biotipe sebagai hasil dari proses adaptasi WBC pada varietas tertentu, tidak terlepas dari peran endosimbion di dalamnya. Endosimbion berperan penting dalam memperbaiki nutrisi makanan atau mensuplai nutrisi esensial pada saat inangnya mengalami perubahan komposisi nutrisi makanannya. Kalau diasumsikan bahwa perubahan biotipe adalah suatu bentuk mutasi, maka peluang mutasi yang lebih besar terjadi pada endosimbionnya sebagai mikroorganisme, bukan pada inangnya. Oleh karena itu, identifikasi endosimbion secara molekuler diharapkan akan membantu pengembangan metode deteksi dini biotipe WBC. Senyawa simbionin misalnya, dapat dijadikan antigen untuk pengembangan metode deteksi secara serologi, meskipun

belum pernah dilaporkan adanya karakter spesifik antar simbionin biotipe-biotipe WBC.

Arti penting endosimbion bagi WBC juga dapat menjadi strategi baru untuk pengembangan metode pengendalian WBC yang lebih efektif dengan endosimbion sebagai sarannya. Ketiadaan endosimbion secara nyata mempengaruhi perkembangan normal WBC. Nimfa WBC yang tidak mengandung simbion mempunyai tingkat pertumbuhan relatif yang sangat rendah dan tidak pernah menjadi dewasa. Peran fisiologis penting endosimbion adalah mendaur ulang asam urat untuk memenuhi kebutuhan N WBC pada saat mengonsumsi makanan dengan kandungan asam amino rendah. Proses ini melibatkan enzim uratase yang disekresikan oleh endosimbion. Dengan menggunakan inhibitor uratase, peran penting endosimbion bagi inangnya dapat dihambat. Pertumbuhan dan perkembangan WBC pun dapat dikendalikan.

WBC di samping dapat merusak secara langsung dengan menghisap cairan tanaman, juga dapat menularkan virus kerdil rumput dan kerdil hampa. Mekanisme penularannya hampir sama dengan penularan virus PLRV oleh



Gambar 1. Kandungan asam urat WBC normal (○) dan tanpa YLS (□) yang diberi makanan buatan dengan kandungan asam amino 400 mM (-) kemudian dilanjutkan dengan asam amino 50 mM (---)

*M. persicae*. Sebelum diinokulasikan, partikel vi-rus harus transfer dari saluran pen-cernaan ke kelenjar ludah lewat haemolim. Namun adanya senyawa yang menstabilkan partikel virus kerdil rumput dan kerdil hampa ke-tika berada di dalam haemolim WBC belum pernah dilaporkan. Selama ini dikenal adanya senyawa *helper* yang membantu proses ino-kulasi kedua virus pada tanaman padi. Apakah senyawa *helper* ini disintesis oleh WBC atau YLS, itu yang belum diketahui. Jika YLS WBC mempunyai peran yang sama dengan endosimbion pada *M. persicae*, maka strategi pengendalian dengan sasaran YLS akan lebih efektif mengendalikan WBC sekaligus virus yang ditularkannya.

### KESIMPULAN

YLS mempunyai peran fisiologis penting dalam mensuplai kebutuhan nutrisi esensial WBC. Munculnya biotipe WBC sebagai hasil dari pro-ses adaptasi WBC pada varietas tertentu diduga kuat tidak terlepas dari peran YLS di dalamnya, karena YLS dapat mensintesis senyawa esensial ketika inangnya mengalami perubahan pola nutrisi dalam makanannya. YLS juga sangat penting untuk perkembangan normal embrio dan nimfa, melindungi WBC dari infeksi patogen yang terbawa dalam makanannya, serta membantu proses penularan virus kerdil rumput dan kerdil hampa. Ketiadaan YLS dalam tubuh WBC dapat mempengaruhi tingkat pertumbuhan relatif dan menggagalkan perkembangan nimfa WBC menjadi imago. Oleh karena itu, strategi pengendalian WBC dengan YLS sebagai sasarannya tidak saja akan efektif mengendalikan WBC, tetapi juga mampu mencegah proses penularan virus yang dibawanya. Interaksi YLS dengan WBC juga menghasilkan senyawa spesi-

fik yang dapat digunakan untuk pengembangan metode deteksi dini biotipe yang cepat dan akurat dengan teknik serologi.

### DAFTAR PUSTAKA

- Baehaki, S.E. 1986.** Komplikasi serangan wereng coklat dan wereng hijau di pertanaman. Ceramah Ilmiah HIMASITA-Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Baehaki, S.E. 1998.** Status hama wereng coklat, *Nilaparvata lugens* Stål. dan pengendaliannya pada tanaman padi di Indonesia. Seminar PPS Lingkup Setdal Bimas. Jakarta, 17 September 1998.
- Baunmann, P., C.Y. Lai, D. Roubakhsh, N.A. Moran, and M.A. Clark. 1995.** Genetics, physiology, and evolutionary relationships of the genus *Buchnera*-intracellular symbionts of aphids. *Annu. Rev. of Microbiol.* 49:55-94.
- Buchner, P. 1965.** Endosymbiosis of animal with plant microorganism. John Wiley and Sons, New York.
- Chen, C.C., L.L. Cheng, C.C. Kuan, and R.F. Hou. 1981a.** Studies on the intracellular yeast-like symbiote in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. I. Histological observation and population changes of the symbiote. *Z. Ang. Ent.* 92:321-327.
- Chen, C.C., L.L. Cheng, C.C. Kuan, and R.F. Hou. 1981b.** Studies on the intracellular yeast-like symbiote in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. II. Effects of antibiotics and elevated temperature on the symbiotes and their host. *Z. Ang. Ent.* 92:440-449.
- Claridge, M.F. and J. Den Hollander. 1983.** The biotype concept and its application to insect pests of agriculture. *Crop Protection* 2:85-95.
- Dadd, R.H. 1985.** Nutrition: Organism. In Kerkut, G.A. and L.I. Gilbert (Eds.). *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology.* Oxford, Pergamon 4:313-391.
- Den Hollander, J. 1989.** Electrophoretic studies on planthoppers and leafhopper of agricultural importance. In Loxdale, H.D. and J. Den Hollander (Eds.). *Electrophoretic Studies on Agricultural Pests. System Association Special Volume* 39:297-315.
- Douglas, A.E. 1989.** Mycetocyte symbiosis in insects. *Biol. Rev.* 69:409-434.
- Fredenhagen, A., P. Kenny, H. Kita, H. Kumura, Y. Naya, K. Nakanishi, K. Nishiyama, M. Sugiura, and S. Tamura. 1987.** In Greenhalgh, R. and T.R. Robert (Eds.). *IUPAC Proceedings, Pesticide Science, and Biotechnology.* Blackwell, Oxford. p. 101-108.
- Hanarida, I. 1998.** Hama wereng coklat padi: Perkembangan biotipe, mekanisme dan genetika ketahanan varietas. *Buletin AgroBio* 2(1):35-44.
- Hongoh, Y. and H. Ishikawa. 1997.** Uric acid as a nitrogen resource for the brown planthopper *Nilaparvata lugens*: Studies with synthetic diets and aposymbiotic insects. *Zoological Science* 14:581-586.
- Hongoh, Y., T. Sasaki, and H. Ishikawa. 2000.** Cloning, sequence analysis, and expression in *Escherichia coli* of the gene encoding a uricase from the yeast-like symbiont of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 20(2000):173-182.
- Ishikawa, H. 1982.** Host-symbionts interactions in the protein synthesis in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Insect Biochemistry* 14:417-425.
- Ishikawa, H. 1989.** Biochemical and molecular aspects of endosymbiosis in insect. *Int. Rev. of Cytol.* 116:1-45.
- Koch, A. 1960.** Intracellular symbiosis in insect. *Annu. Rev. of Microbiol.* 14:121-140.
- Lee, Y.H. and R.F. Hou. 1987.** Physiological roles of a yeast-like symbiote in reproduction and embryonic development of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stål. *J. Insect Physiology* 33(11):851-860.
- Mochida, O., T. Suryana, and A. Wahyu. 1977.** Recent outbreaks of

- the brown planthopper in Southeast Asia (Special reference to Indonesia). *In* The Rice Brown Planthopper. Taipei, Taiwan.
- Nasu, S., T. Kusimi, Y. Suwu, and H. Kita. 1981.** Symbiotes of planthopper II. Isolation of intracellular symbiotic microorganisms from the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* and imunological comparison of the symbiotes associated with the rice planthoppers (Hemiptera: Delphacidae). *Applied Entomology and Zoology* 16:88-93.
- Noda, H. 1977.** Histological and histochemical observation of intracellular yeast-like symbiotes in the fat body of the smaller brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Homoptera: Delphacidae). *Applied Entomol. and Zool.* 12:134-141.
- Noda, H. and T. Saito. 1979.** The role of intracellular yeast-like symbiotes in the development of *Laodelphax striatellus* (Homoptera: Delphacidae). *Applied Entomol. and Zool.* 14:453-458.
- Noda, H., N. Nakashima, and M. Koizumi. 1995.** Phylogenetic position of yeast-like symbiotes of rice planthopper based on partial 18S rDNA sequences. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 25(5):639-646.
- Oka, I.N. dan Bahagiawati. 1987.** Perkembangan biotipe wereng coklat (*Nilaparvata lugens* Stål) di Indonesia. Edisi khusus No. 1: Wereng Coklat. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Balittan Bogor. hlm. 31-42.
- Sasaki, T., M. Kawamura, and H. Ishikawa. 1996.** Nitrogen recycling in the brown planthopper *Nilaparvata lugens*: Involvement of yeast-like symbionts in uric acid metabolism. *Journal Insect Physiology* 42:125-129.
- Saxena, R.C. and A.A. Barrion. 1985.** Biotypes of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stål and strategies in deployment of host plant resistance. *Insect Science Application* 6:271-289.
- Shuran, K.A. and M.E. Whalon. 1995.** Genetic analysis of brown planthopper biotypes using random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction (RAPD-PCR). *Insect Science Application* 16(1):27-33.
- Smith, J.D. 1948.** Symbiotic microorganism of aphid and fixation of atmospheric nitrogen. *Nature* 162:930-931.
- Southwood, T.R.E. 1977.** The relevance of population dynamic theory to pest status. *In* Cherrett, J.M. and G.R. Sagar (Eds.). *Origins of Pest, Disease, and Weed Problems*. Blackweels Scientific Publ., Oxford. p. 35-54.
- Van den Heuvel, J.F.J.M., M. Verbeek, and F. van der Wilk. 1994.** Endosymbiotic bacteria associated with circulative transmission of potato virus by *Myzus persicae*. *Journal General Virology* 75:124-142.
-