

**KEPELBAGAIAN MOLEKUL BEBERAPA VARIETI PADI YANG  
MEMPUNYAI REAKSI BERBEZA TERHADAP PENYAKIT KARAH**

**NOOR HYDAYATY BINTI MD YUSUF**

**DISERTASI YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN  
DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS  
DENGAN KEPUJIAN**

**PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

**PROGRAM TEKNOLOGI TUMBUHAN  
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

**Mei 2008**



## UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: Kepelbagaiannya molekul beberapa varieti padi yang mempunyai reaksi berbeza terhadap penyakit Karas

IJAZAH: Ijazah Sarjana Muda Sains dengan kepujian (Teknologi Tumbuhan)

SAYA NOOR HYDAYATY MO YUSYF SESI PENGAJIAN: 2005/2006  
(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPSM/Sarjana/Doktor Falsafah) ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:-

1. Tesis adalah hak milik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. Sila tandakan (/)

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau Kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD



(TANDATANGAN PENULIS)

Disahkan Oleh:

**NURULAIN BINTI SMAIL**

LIBRARIAN

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: No 56, Jln Siakap 10,  
Tmn Pasir Putih, 81700  
Pasir Gudang, Johor

Nama Penyelia \_\_\_\_\_

Tarikh: 09/05/08

Tarikh: \_\_\_\_\_

CATATAN:- \*Potong yang tidak berkenaan.

\*\*Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa /organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

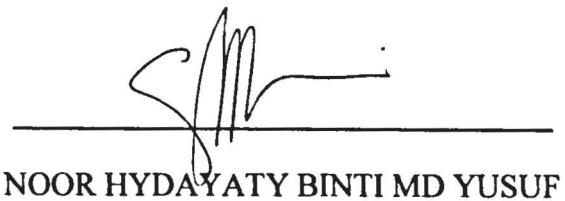
@Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan atau disertai bagi pengajian secara kerja kursus dan Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



## PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.

8 Mei 2008



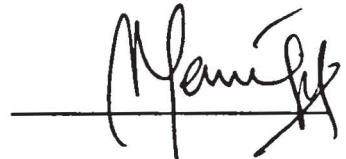
---

NOOR HYDAYATY BINTI MD YUSUF

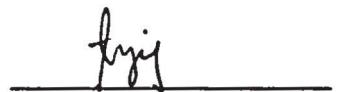
HS2005-1114

**DIPERAKUKAN OLEH****TANDATANGAN****1. PENYELIA**

(Prof. Madya. Datin. Dr. Mariam Abd. Latip)


**2. PENYELIA BERSAMA**

(Cik Chee Fong Tyng)


**3. PEMERIKSA 1**

(En Lum Mok Sam)



LUM MOK SAM  
Pensyarah  
Sekolah Pertanian Lestari  
Universiti Malaysia Sabah

**4. DEKAN**

(Supt./ KS Prof. Madya Dr. Shariff A.K Omang)



## PENGHARGAAN

Saya bersyukur kepada tuhan kerana dengan izinNya saya dapat menyiapkan disertasi ini. Terima kasih teristimewa untuk kedua ibu bapa saya untuk doa dan sokongan tanpa henti yang diberikan. Saya ingin mengambil kesempatan ini untuk mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang terlibat secara langsung atau tidak langsung sepanjang saya menyiapkan disertasi ini.

Pertama sekali saya mengucapkan jutaan terima kasih kepada penyelia saya, Prof. Madya. Datin. Dr. Mariam Abd. Latip dan penyelia bersama, Cik Chee Fong Tyng diatas segala tunjuk-ajar, nasihat, dan motivasi yang diberikan kepada saya tanpa jemu sepanjang saya melaksanakan disertasi ini.

Saya juga ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada pembantu makmal genetik, Kak Christina dan Abang Airin yang banyak membantu saya di makmal. Tidak lupa juga kepada rakan saya Asyraf, Safwan, Gloria, Gayathri, dan Choong yang telah banyak membantu dan berkongsi maklumat dengan saya.

Terima kasih yang tidak terhingga dari saya untuk semua.

## ABSTRAK

Penanda *Random amplified polymorphic DNA* (RAPD) telah digunakan dalam penandaan gen yang berpotensi rintang terhadap penyakit karah pada padi. Objektif kajian adalah untuk mengkaji kepelbagaian genetik beberapa varieti padi tempatan Sabah menggunakan penanda RAPD dan mengenalpasti penanda RAPD yang berpotensi terangkai dengan gen yang rintang kepada penyakit karah padi yang terdapat pada varieti padi tempatan di Sabah. Sembilan penanda RAPD iaitu OPAS5, OPF6, OPF9, OPF17, OPF19, OPG18, OPB7, OPK9 dan OPH19 menunjukkan polimorfisme yang jelas pada varieti tempatan yang rintang dan tidak rintang. Sebanyak 70 jalur dihasilkan dan 63 adalah polimorfik. Padi traditional mempunyai kadar kepelbagaian terhadap kerintangan kepada penyakit karah yang tinggi dengan memberikan 90 % kadar polimorfisme. Setiap primer menghasilkan 3 hingga 13 jalur dengan saiz molekul 290 bp hingga 1300 bp. Frekuensi jalur tertinggi adalah 83.33 % dan frekuensi terendah adalah 16.67 %. Indeks jarak genetik antara populasi rintang dan tidak rintang adalah 0.2645 manakala indeks kesamaan genetik adalah 0.7676. Dendogram UPGMA telah membahagikan enam varieti padi kepada dua kelompok utama mengikut reaksi ke atas penyakit karah. Kelompok pertama terdiri daripada kesemua varieti tidak rintang kepada penyakit karah iaitu Batangan, Azucena, Bataris, dan Tadong serta satu varieti rintang Batikan. Kelompok kedua terdiri daripada satu varieti rintang iaitu Ambas. Penanda OPG18 bersaiz 850 bp hanya dijumpai pada varieti rintang dan berpotensi sebagai penanda bagi membezakan varieti rintang dan tidak rintang.

## ABSTRACT

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) have been used for the molecular tagging of potentially blast resistance genes in rice. The objectives of this research are to study the genetic variation in a number of local rice by using RAPD markers and to identify the RAPD markers potentially related to the blast resistance gene in the local rice. A very clear polymorphism shown in both resistance and susceptible traditional rice by nine RAPD primers OPA5, OPF6, OPF9, OPF17, OPF19, OPG18, OPB7, OPK9 and OPH19. Total 70 bands were produced and 63 are polymorphic. The diversity of resistance to blast disease in traditional rice is high with 90 % rate of polymorphism. Each primer produces 3 to 13 bands with molecular size 260 bp to 1300 bp. The highest frequency of bands was 83.33 % and the lowest was 16.67 %. The index of genetic distance between resistance and susceptible population was 0.2645 while the index of genetic similarity was 0.7676. Cluster analysis (UPGMA) separated the six samples into two main clusters. The first cluster are consist of all the susceptible variety including Batangan, Azucena, Bataris, Tadong and one resistant variety, Batikan. The second cluster consist only one resistant variety, Ambas. Primer OPG18 with 850 bp was found only in resistant variety thus has potential to be used as a marker to differentiate between resistant and susceptible variety.

## SENARAI KANDUNGAN

	<b>Muka surat</b>
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI GAMBAR	xii
SENARAI FORMULA	xiii
SENARAI SIMBOL DAN SINGKATAN	xiv

### **BAB 1 PENDAHULUAN**

1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif kajian	3

### **BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN**

2.1 Pendahuluan	4
2.2 Taksonomi	5
2.3 <i>Oryza sativa</i>	5
2.3.1 Species <i>Oryza sativa</i>	5
2.3.2 Subspecies <i>Oryza sativa</i>	7
2.3.3 Kumpulan dalam <i>Oryza sativa</i>	8
2.3.4 Kepelbagaiannya genetik <i>Oryza sativa</i>	8
2.4 Kepelbagaiannya genetik padi terhadap penyakit karah padi	10
2.4.1 Kerintangan bagi tempoh lama	11
2.4.2 Kerintangan meluas pada <i>Pyricularia grisea</i>	12

2.4.3 Pengesanan kepelbagaian genetik dan gen rintang	13
<b>2.5 Penanda genetik</b>	<b>14</b>
2.5.1 Penanda morfologi	14
2.5.2 Penanda biokimia	14
2.5.3 Penanda DNA	15
i. RAPD	15
ii. SSR	16
iii. RFLP	17
iv. AFLP	18
v. SRAP	18

### **BAB 3 BAHAN DAN KAEADAH**

<b>3.1 Bahan kajian</b>	<b>20</b>
3.1.1 Pokok padi	20
3.1.2 Penanda RAPD	21
<b>3.2 Kaedah kajian</b>	<b>22</b>
3.2.1 Penyediaan sampel kajian	24
3.2.2 Pengekstrakan DNA	24
3.2.3 Kuantifikasi DNA menggunakan 0.8% gel agaros	28
3.2.4 Tindakbalas rantai polimerase (PCR)	29
3.2.5 Analisis produk PCR menggunakan 1.4% gel agaros	31
3.2.6 Penskoran jalur	32
3.2.7 Analisis data	33

### **BAB 4 HASIL**

<b>4.1 Pengekstrakan DNA</b>	<b>35</b>
<b>4.2 Amplifikasi dan optimikasi PCR</b>	<b>37</b>
<b>4.3 Amplifikasi RAPD</b>	<b>39</b>
4.3.1 Jumlah jalur	44
4.3.2 Saiz jalur	47
4.3.3 Kualiti jalur	48

4.4 Fekuensi jalur dan polimorfisma RAPD	51
4.6 Jarak genetik dan kesamaan genetik	57
4.7 Analisis kelompok	59
<b>BAB 5 PERBINCANGAN</b>	
5.1 Pengekstrakan DNA	61
5.2 Amplifikasi dan optimikasi PCR	62
5.3 Elektroforesis gel agaros	63
5.4 Amplifikasi RAPD	64
5.5 Frekuensi jalur dan polimorfisma RAPD	67
5.6 Jarak genetik dan kesamaan genetik	68
5.7 Analisis kelompok	69
<b>BAB 6 KESIMPULAN</b>	
RUJUKAN	70
	72

## SENARAI JADUAL

<b>No jadual</b>		<b>Muka surat</b>
2.1	Perbezaan antara spesies kultivar dengan spesies liar	7
2.2	Varieti yang rentang kepada penyakit karah dalam tempoh lama	11
2.3	Senarai varieti padi yang rentang terhadap kebanyakan <i>P. oryzae</i>	12
2.4	Senarai varieti dengan gen dan penanda DNA	13
2.5	Perbandingan antara penanda RAPD, SSR, RFLP, dan AFLP	19
3.1	Nama varieti padi, status kerintangan terhadap penyakit karah, lokasi asal, dan sumber benih diperolehi	21
3.2	Nama, status, dan jujukan DNA penanda-penanda RAPD	22
3.3	Larutan penimbang pengekstrakan DNA	26
3.4	Larutan penimbang TE (pH 8)	26
3.5	Komponen-komponen PCR berserta jumlah isipadu akhir bagi tindak balas 1RX, 10RX, dan 50RX.	30
3.6	Komponen-komponen larutan penimbang PCR	30
3.7	Proses dan jumlah kitaran PCR	31
4.1	Optimikasi protokol kandungan komponen <i>Taq</i> polimerase, MgCl <sub>2</sub> , dan sampel DNA	38
4.2	Bilangan jalur terhasil bagi sembilan primer dan enam varieti.	46
4.3	Bilangan dan saiz jalur bagi setiap primer	47
4.4	Kualiti jalur, bilangan, dan saiznya bagi setiap primer	49
4.5	Kualiti jalur dan bilangannya bagi enam varieti padi	50
4.6	Frekuensi jalur terhasil dari sembilan primer pada enam varieti	51
4.7	Peratus jalur polimorfik bagi sembilan primer	54
4.8	Jarak genetik dan kesamaan genetik bagi enam varieti padi	58
4.9	Jarak genetik dan kesamaan genetik bagi populasi tidak rentang dan rentang kepada penyakit karah.	58



## SENARAI RAJAH

No <b>rajah</b>	Muka <b>surat</b>
2.1      Taksonomi <i>O. sativa</i>	6
3.1      Carta aliran kaedah kajian	23
3.2      Carta aliran kaedah pengekstrakan DNA	27
3.3      Pemasangan bekalan elektrik untuk proses elektroforesis	29
3.4      Pengenalpastian kehadiran jalur polimorfik	32
4.1      Rajah pokok UPGMA bagi enam varieti padi berdasarkan jarak genetik Nei (1979)	60

## SENARAI GAMBAR

No gambar		Muka surat
4.1	Jalur DNA lapan sampel padi dengan 0.8% gel agaros	35
4.2	Jalur DNA lapan sampel selepas perlarutan kali ke-2 dengan larutan perimbal TE	36
4.3	Jalur DNA bagi pengekstrakan kali ke-2 sampel Teqing, Babayau, dan Tadong	37
4.4	Jalur amplifikasi protokol RAPD bagi manipulasi kandungan $Mg^{2+}$ , <i>Taq</i> polimerase, dan sampel DNA.	39
4.5	Gel bagi lapan sampel padi diuji dengan penanda RAPD OPH19	40
4.6	Gel bagi lapan sampel padi diuji dengan penanda RAPD OPF6	40
4.7	Gel bagi lapan sampel padi diuji dengan penanda RAPD OPF9	41
4.8	Gel bagi lapan sampel padi diuji dengan penanda RAPD OPG18	41
4.9	Gel bagi lapan sampel padi diuji dengan penanda RAPD OPB07	42
4.10	Gel bagi lapan sampel padi diuji dengan penanda RAPD OPK09	42
4.11	Gel bagi lapan sampel padi diuji dengan penanda RAPD OPAS	43
4.12	Gel bagi lapan sampel padi diuji dengan penanda RAPD OPF17	43
4.13	Gel bagi lapan sampel padi diuji dengan penanda RAPD OPK19	44
4.14	Foto amplifikasi RAPD bagi primer OPH19 dan OPF06	56
4.15	Foto amplifikasi RAPD pada primer OPG18	57

**SENARAI FORMULA**

<b>No</b>		<b>Muka</b>
<b>formula</b>		<b>surat</b>
3.1	Frekuensi jalur	33
3.2	Peratus polimorfisma	33
3.3	Kesamaan genetik	33
3.4	Jarak genetik	34

## SENARAI SIMBOL DAN SINGKATAN

AFLP	Polimorfisma amplifikasi panjang fragmen
bp	Pasangan jujukan
cm	sentimeter
cM	SentiMorgan
ddH <sub>2</sub> O	Air dua kali penyulingan
dNTP	Deoxiribonukleotida trifosfat
DNA	Asid deoxiribonukleotida
EtBr	Etidium bromida
EtOH	Etanol
g	Gram
Ha	Hektar
M	Molar
Mbp	Mega pasangan jujukan
ml	Mili liter
mM	Mili molar
ng	Nano gram
PCR	Tindak balas rantai polimerase
pH	Kepekatan H <sup>+</sup> dalam cecair
RAPD	Amplifikasi rawak polimorfisma DNA
RFLP	Polimorfisma panjang fragmen batasan
rpm	Rovolusi per minit
RX	Tindak balas
SRAP	Amplifikasi polimorfisma jujukan berkait
SSR	Ulangan jujukan pendek
TAE	Tris-Asetat-EDTA
TE	Tris -EDTA
UPGMA	<i>Unweighted paired-group method of average</i>
UV	Ultra ungu
V	Voltan

X	Tindak balas
%	Peratus
°C	Darjah celcius
$\mu\text{l}$	Mikro liter
$\lambda$	Lambda

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Pengenalan

*Oryza sativa* L. atau padi merupakan tanaman industri dan merupakan makanan ruji bagi separuh daripada populasi penduduk dunia merangkumi Asia, Eropah mahupun Afrika. Kandungan karbohidrat yang tinggi menjadikannya sumber tenaga utama manusia. Peningkatan populasi dunia telah menyumbang kepada peningkatan penghasilan padi berikutan daripada permintaan yang tinggi daripada pengguna.

Kebanyakan negara kini giat menambah kawasan penanaman padi bagi menampung permintaan dunia yang tinggi. Namun begitu penambahan kawasan tanaman adalah tidak relevan bagi negara yang sedang aktif berurbanisasi. Alternatif lain bagi mengatasi masalah ini adalah dengan meningkatkan hasil padi per pokok.

Pengawalan faktor abiotik seperti suhu, kandungan kelembapan, bekalan oksigen, cahaya, nutrient, air, dan baja dapat menjana kepada penghasilan padi yang tinggi. Selain daripada itu, faktor biotik juga mempengaruhi penghasilan padi. Antara faktor biotik adalah patogen. Serangan patogen yang menyebabkan penyakit pada pokok padi adalah penyumbang terbesar kepada kehilangan hasil tanaman padi dunia terutamanya penyakit karah padi yang disebabkan oleh sejenis kulat *Pyricularia grisea* juga dikenali sebagai *Pyricularia oryzae*.

Berbanding dengan faktor abiotik, faktor biotik adalah lebih sukar untuk dikawal. Walaupun serangan penyakit karah pada pokok padi boleh dikawal melalui penggunaan racun, tetapi penggunaan tanaman yang rintang kepada penyakit adalah cara yang paling efektif dan ekonomi. Beberapa varieti rintang telah berjaya dihasilkan. Varieti IR64 adalah varieti padi Asia yang dilaporkan sebagai sangat rintang pada penyakit karah (Sallaud *et al.*, 2003), varieti Teqing dari China dilaporkan sebagai rintang kepada semua jenis penyakit karah (Fjellstrom *et al.*, 2004), dan varieti Gumei 4 dari Sichuan, China dilaporkan mempunyai kerintangan yang luas pada *P. grisea* dalam tempoh lebih daripada 20 tahun (Deng *et al.*, 2006).

Dalam usaha menghasilkan tanaman yang rintang penyakit, gen yang rintang kepada *P. grisea* harus dikenalpasti. Salah satu teknik yang menjanjikan pemilihan gen yang rintang dengan mudah ialah melibatkan penanda molekul seperti *Random Amplified Polymorphic DNA Marker* (RAPD). Kajian yang dijalankan sebelum ini telah membuktikan bahawa RAPD boleh dan sesuai digunakan dalam mengenalpasti gen yang rintang kepada *P. grisea*. Penanda RRF6 dan RRH18 telah mengesan gen *Pi-10t* yang rintang kepada *P. grisea* (Mohan *et al.*, 1997). Penanda RAPD OPA5, OPG17, OPG18, OPG19, OPF9, OPF17, dan OPF19 dilaporkan memberikan polimorfisma yang jelas dalam membezakan varieti yang rintang dan tidak rintang kepada *P. grisea* pada tiga varieti dari Brazil (Sandhu *et al.*, 2003).

Kajian mengenai kepelbagaian genetik adalah penting untuk program pembiakbakaan tanaman padi. Dengan mengkaji kepelbagaian genetik, pembetulan yang rational pada program pembiakbakaan dapat dilakukan. Oleh yang demikian, kajian mengenai kepelbagaian genetik padi adalah perlu untuk rujukan dalam program pembiakbakaan masa hadapan.

## **1.2 Objektif kajian**

Objektif kajian ini adalah:

1. Mengkaji kepelbagaiannya genetik beberapa varieti padi tempatan Sabah menggunakan penanda RAPD.
2. Mengenalpasti pananda RAPD yang berpotensi terangkai dengan gen yang rentang kepada penyakit karah padi yang terdapat pada varieti padi tempatan di Sabah.

## BAB 2

### ULASAN PERPUSTAKAAN

#### 2.1 Pendahuluan

*Oryza sativa* L. atau padi secara dasarnya mempunyai tiga kepentingan utama terhadap dunia. Pertama, beras merupakan makanan ruji bagi lebih daripada tiga bilion manusia di mana ia merangkumi 20 % daripada jumlah kalori harian yang diambil oleh mereka (Delseny *et al.*, 2001; Garris *et al.*, 2005; Sweeney & McCouch, 2007). Kedua ialah kepentingannya dalam ekonomi. Di Asia, secara puratanya, permintaan terhadap padi dijangka meningkat sebanyak 25 % pada tahun 2010 atau dengan makna lain pengeluaran purata sebanyak lima tan per hektar akan meningat kepada 8 tan per hektar (Delseny *et al.*, 2001). Kegunaannya yang ketiga ialah sebagai model dalam kajian melibatkan bidang genetik kerana ia mengandungi genom yang kecil iaitu 440 Mbp dan tersebar dalam 12 pasang kromosom yang boleh dikenali secara individu (Delseny *et al.*, 2001; Sweeney & McCouch, 2007), ini sekaligus membuka peluang dalam kajian melibatkan tanaman ini.

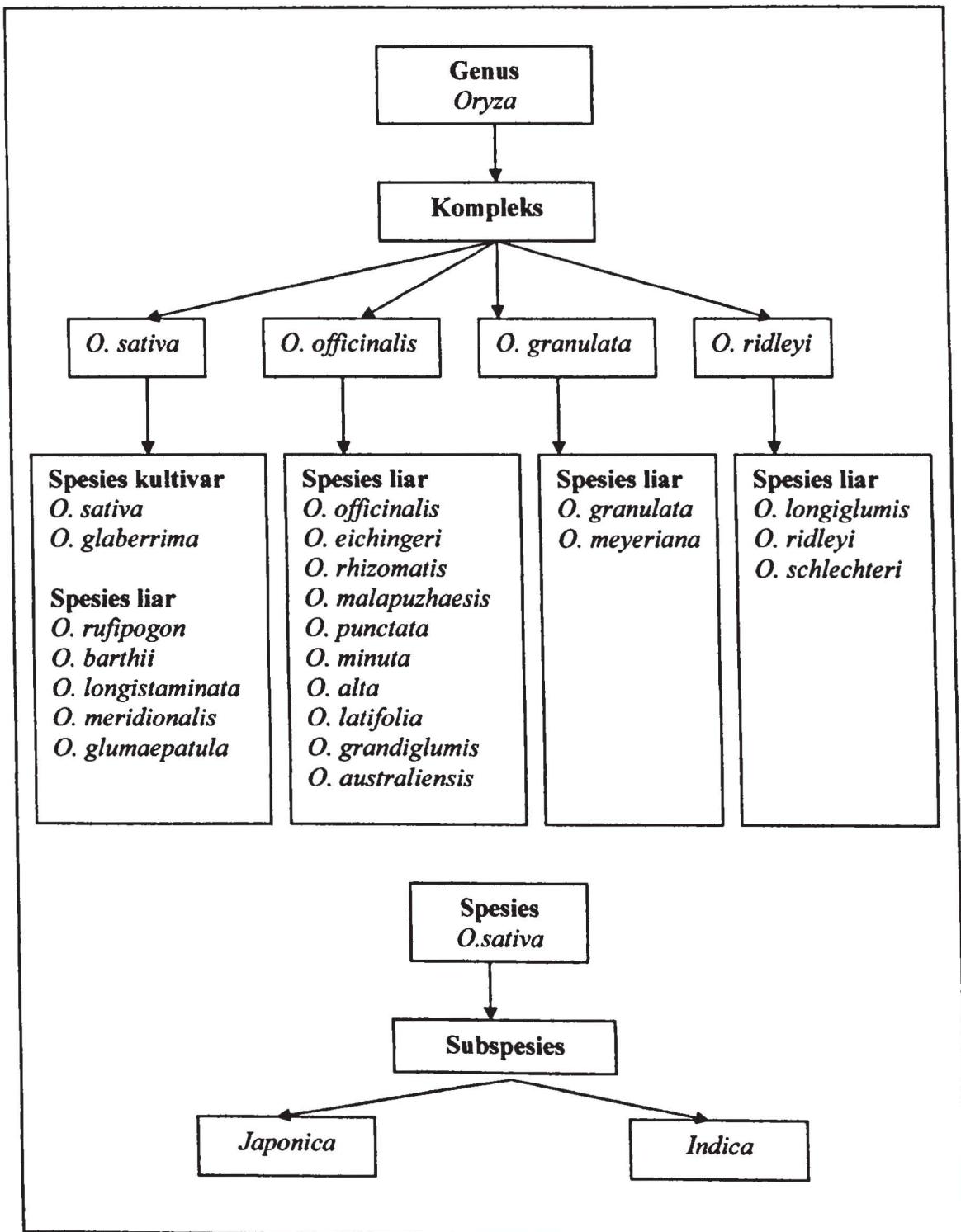
## 2.2 Taksonomi

Menurut Sweeney & McCouch (2007), padi atau *Oryza sativa* adalah tergolong di dalam genus *Oryza*. Kesemua spesies yang tergolong di dalam genus ini mempunyai persamaan dari segi bilangan kromosom iaitu  $n = 12$  kromosom. Genus *Oryza* mempunyai dua spesies yang ditanam secara meluas dan 21 spesies liar. Terdapat empat kompleks taksa yang bernaung di bawah genus *Oryza* iaitu *O. sativa*, *O. officinalis*, *O. ridelyi* dan *O. granulata* (Veasey *et al.*, 2004). Taksonomi *O. sativa* ditunjukkan dalam Rajah 2.1.

## 2.3 *Oryza sativa*

### 2.3.1 Kompleks *Oryza sativa*

Terdapat tujuh spesies secara keseluruhannya terangkum di dalam kompleks *O. sativa* ini (Veasey *et al.*, 2004). Dua spesies iaitu *O. glaberrima* dan *O. sativa* merupakan spesies kultivar dan telah menjalani pendomestikan manakala lima spesies lain iaitu *O. rufipogon*, *O. barthii*, *O. longistaminata*, *O. meridionalis*, dan *O. glumaepatula* adalah spesies liar (Veasey *et al.*, 2004; Sweeney & McCouch, 2007). *O. sativa* ditanam di serata dunia terutamanya Asia manakala *O. glaberrima* hanya ditanam di Afrika (Delseny *et al.*, 2001; Sweeney & McCouch, 2007). Terdapat perbezaan yang jelas antara spesies kultivar dan spesies liar. Perbezaan ini dinyatakan dalam Jadual 2.1.



Rajah 2.1 Taksonomi *O. sativa*.

**Jadual 2.1** Perbezaan antara spesies kultivar dengan spesies liar (Sweeney & McCouch, 2007)

Ciri-ciri	Spesies kultivar ( <i>O. sativa</i> )	Spesies liar
<b>Pengetaman</b>	Pengetaman dikurangkan bagi memaksimumkan hasil tuaian.	Pengetaman adalah kerap bagi penyebaran benih.
<b>Dormansi</b>	Kadar dormansi rendah bagi percambahan yang seragam.	Kadar dormansi tinggi dan kekal selama beberapa tahun.
<b>Pericarp dan kelongsong benih</b>	Kurang pigmen dan menyebabkan benih berwarna putih.	Mengandungi pigmen yang menyebabkan warna merah pada benih.
<b>Warna benih</b>	Putih	Merah
<b>Lengai benih</b>	Warna seperti jerami	Berwarna gelap
<b>Saiz benih</b>	Saiz yang pelbagai dan berbeza	Saiz kecil
<b>Daun</b>	Berwarna lebih cerah	Berwarna lebih gelap
<b>Awn</b>	Pendek	Panjang
<b>Pendebungan</b>	Hampir kesemuanya menjalankan <i>Inbreeding</i>	Sesetengahnya menjalankan <i>outcrossing</i>

### 2.3.2 Subspesies *Oryza sativa*

Spesies *O. sativa* boleh dibahagikan kepada dua subspesies iaitu *Japonica* dan *Indica* (Delseny *et al.*, 2001; Garris *et al.*, 2005; Nakayama, 2005). Sejak zaman pemerintahan dinasti Han di China, terdapat rekod yang mencatat tentang dua jenis padi yang dipanggil Hsien dan Keng dan kini ia dipanggil sebagai *Indica* dan *Japonica* (Sweeney & McCouch, 2007).

Perbezaan antara *Indica* dan *Japonica* ialah ia ditanam pada keadaan geografi yang berbeza. *Indica* biasanya ditanam di kawasan tropika seperti di Asia Tenggara dan ditanam di kawasan tanah rendah manakala *Japonica* pula ditanam di kawasan beriklim sederhana di bahagian Asia Timur seperti Jepun dan utara China dan ditanam di kawasan tanah tinggi. Namun begitu *Japonica* juga ada ditanam secara besar-besaran di kawasan tropika walaupun *Japonica* adalah predominan di kawasan ini (Xu *et al.*, 2004; Garris *et al.*, 2005). Satu lagi perbezaan nyata antara keduanya ialah *Indica* menghasilkan nasi yang tidak melekit manakala *Japonica* memberikan nasi yang melekit apabila dimasak (Garris *et al.*, 2005).

### **2.3.3 Kumpulan dalam *Oryza sativa***

Kajian yang dijalankan oleh pengkaji-pengkaji terkini telah berjaya membahagikan *O. sativa* kepada lima kumpulan utama iaitu *Indica*, *Aus*, *Aromatic*, *temperate japonica*, dan *tropical japonica* (Garris *et al.*, 2005).

### **2.3.4 Kepelbagaian genetik *Oryza sativa***

Padi merupakan tanaman yang melakukan pendebungaan sendiri, (Garris *et al.*, 2005) dan atas dasar ini aliran gen adalah terhad antara spesies yang sama. Aliran keluar gen adalah terhalang. Oleh yang demikian, tanaman padi ini saling membiak antara satu sama lain dan ini boleh melibatkan antara spesies liar dan spesies kultivar. Jadi adalah tidak mustahil bagi spesies kultivar mempunyai ciri-ciri seperti spesies liar. Faktor ini merupakan salah satu penyumbang kepada kepelbagaian genetik tanaman padi. Atas sebab ini kadar perbezaan genetik yang tinggi adalah dijangkakan pada kumpulan padi di kawasan geografi atau ekologi yang berbeza. Kajian melaporkan bahawa kepelbagaian

## RUJUKAN

- Aitchitt, M., Thangavelu, M. & Mantell, S. H., 2007. The reproducibility of RAPD profiles: Effect of PCR components on RAPD analysis of Date Palm DNA. *Plant Molecular Biology Report*, 225-233.
- Almanza-Pinzon, M. I., Khairallah, M., Fox, P.N. & Warburton, M. L., 2003. Comparison of molecular markers and coefficients of parentage for the analysis of genetic diversity among spring bread wheat accessions. *Euphytica* 130, 77-86.
- Altman, D. V. & Watanabe, K. N., 1995. *Plant biotechnology transfer to developing countries*. R.G. Landers company, Austin, Texas.
- Araujo, L. G., Prabhu, A. S., Filippi, M. C. & Chaves, L. J., 2001. RAPD analysis of blast resistant somaclones from upland rice cultivar IAC 47 for genetic divergence. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 67, 165-172.
- Berruyer, R., Adreit, H., Milazzo, J., Gaillard, S., Berger, A., Dioh, W., Lebrun, M. H. & Tharreau, D., 2003. Identification and fine mapping of *Pi33*, the rice resistance gene corresponding to the *Magnaporthe grisea* avirulence gene *ACE1*. *Theoretical & Applied Genetics* 107, 1139-1147.
- Berry, R. J., Crawford, T. J., Hewutt, G. M., 1992. *Genes in ecology*. Blackwell scientific publications.
- Chadha, S. & Gopalakrishna, T., 2005. Genetic diversity of Indian isolates of rice blast pathogen (*Magnaporthe grisea*) using molecular markers. *Current science* 88, 1466-1469.
- Chen, D. H., Vina, M. D., Inukai, T., Mackill, D. J., Ronald, P. C. & Nelson, R. J., 1999. Molecular mapping of the blast resistance gene, *Pi44(t)* in a line derived from a durably resistant rice cultivar. *Theoretical & Applied Genetics* 98, 1046-1053.

Chen, L. J., Lee, D. S., Song, Z. P., Suh, H. S. & Lu, B., 2004. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. *Annals of Botany* **93**, 67-73.

Correa-Victoria, F. L. & Zeigler, R. S., 1995. Stability of partial and complete resistance in rice to *Pyricularia grisea* under rainfed upland conditions in Eastern Colombia. *The American Phytopathological Society* **85**, 977-982.

Delseny, M., Salses, J., Cooke, R., Sallaud, C., Regad, F., Lagoda, P., Guiderdoni, E., Ventelon, M., Brugidou, C. & Ghesquiere, A., 2001. Rice genome: Present and future. *Plant Physiology Biochemistry* **39**, 323-334.

Deng, Y., Zhu, X., Shen, Y. & He, Z., 2006. Genetic characterization and fine mapping of the blast resistance locus Pigm(t) tightly linked to Pi2 and Pi9 in a broad-spectrum resistant Chinese variety. *Theoretical Applied Genetics* **113**, 705-713.

Dinesh, K. R., Lim, T. M., Chan, W. K. & Phang, V. P. E., 1996. Genetic variation inferred from RAPD fingerprinting in three species of tilapia. *Aquaculture International* **4**, 19-30.

Fjellstrom, R., Conaway-Bormans, C. A., McClung, A. M., Marchetti, A., Shank, A. R. & Park, W. D., 2004. Development of DNA marker suitable for marker assisted selection of three *Pi* genes conferring resistance to multiple *Pyricularia grisea* pathotypes. *Crop Science* **44**, 1790-1798.

Garris, A. J., Tai, T. H., Coburn, J., Kresovich, S. & McCouch, S., 2005. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* **104**, 1-28.

Ge, S., Oliveira, G. C. S., Schaal, B. A., Gao, L. Z. & Hong, D. Y., 1999. RAPD variation within and between natural populations of the wild rice *Oryza rufipogon* from China and Brazil. *Heredity* **82**, 638-644.

Grimmer, M. K., Trybush, S., Hanley, S., Francis, S. A., Karp, A. & Asher, M. J. C., 2007. An anchored linkage map for sugar beet based on AFLP, SNP and RAPD markers and QTL mapping of a new source of resistance to beet necrotic yellow vein virus. *Theoretical & Applied Genetics* 114, 1151-1160.

Hittalmani, S., Foolad, M. R., Mew, T., Rodriguez, R. L. & Huang, N., 1995. Development of a PCR-based marker to identify rice blast resistance gene, *Pi-2(t)*, in a segregating population. *Theoretical & Applied Genetics* 91, 9-14.

Hu, X. Y., Ohm, H. W. & Dweikat, I., 1997. Identification of RAPD markers linked to the gene *PM1* for resistance to powdery mildew in wheat. *Theoretical & Applied Genetics* 94, 832-840.

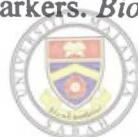
Karp, A., Kresovich, S., Bhat, H. V., Ayad, W.G. & Hodgkin, T., 1997. *Molecular tools in plant genetics resource conservation: A guide to the technologies*. IPGRI Technical Bulletin 2. Italy.

Kuta, D. D., Kwon-Ndung, E., Dachi, S., Bakare, O. & Ogunkanmi, L. A., 2005. Optimization of protocols for DNA extraction and RAPD analysis in West African fonio (*Digitaria exilis* and *Digitaria iburua*) germplasm characterization. *African Journal of Biotechnology* 4(12), 1368-1371.

Li, S., Yang, G., Li, S., Li, T., Chen, Z. & Zhu, Y., 2005. Distribution of fertility - restorer genes for wild-abortive and Honglian CMS of rice in the AA genome species of genus *Oryza*. *Annals of Botany* 96, 461-466.

Lima, J. M., Dass, A., Sahu, S. C., Behera, L. & Chauhan, D. K., 2006. A RAPD marker identified a susceptible specific locus for gall midge resistance gene in rice cultivar ARD5984. *Crop Protection*, 1-5.

Liu, Y., Chen, S. & Li, B., 2007. Genetic differentiation among common and selected hatchery populations of flounder: Evidence from RAPD markers. *Biochemical systematical and ecology*, 1-7.



Liu, W., Yang, Y. S., Zhou, Q., Xie, Q., Li, P. & Sun, T., 2007. Impact assessment of cadmium contamination on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings at molecular and population levels using multiple biomarkers. *Chemosphere* **67**, 1155-1163.

Michelmore, R. W., Paran, I. & Kesseli, R. V., 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceeding National Academy Science USA* **88**, 9828-9832.

Milligan, B. G., 2002. Total DNA isolation. In: Hoelzel, A. R (ed.), *Molecular genetic analysis of populations*. Oxford University Press, Oxford.

Mohan, M., Nair, S., Bhagwat, A., Krishna, T. G., Yano, M., Bhatia, C. R. & Sasaki, T., 1997. Genomic mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular breeding* **3**, 87-103.

Nagaoka, T. & Ogiura, Y., 1997. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theoretical & Applied Genetics* **94**, 597-602.

Nagi, N., 2007. Detection of DNA polymorphism in sugar beet bulks by SRAP and RAPD markers. *Journal of biotechnology*, 4.

Nakayama, S., 2005. Molecular cytological diversity in cultivated rice *Oryza sativa* subspecies *japonica* and *indica*. *Breeding Science* **55**, 425-430.

Naqvi, N. I., Bonman, J. M., Mackill, D. J., Nelson, R. J. & Chattoo, B. B., 1995. Identification of RAPD markers linked to a major blast resistance gene in rice. *Molecular Breeding* **1**, 341-348.

Nkongolo, K. K., Klimaszewska, K. & Gratton, W. S., 1998. DNA yields and optimization of RAPD patterns using spruce embryogenic lines, seedlings, and needles. *Plant Molecular Biology Reporter* **16**, 1-9.

- Parsons, B. J., Newbury, H. J., Jackson, M. T. & Ford-Lloyd, B. V., 1997. Contrasting genetic diversity relationships are revealed in rice (*Oryza sativa* L.) using different marker type. *Molecular Breeding* **3**, 115-125.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hnanafey, M., Vogel, J., Tingey, S. & Rafalski, A., 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* **2**, 225-238.
- Ravi, M., Geethanjali, S. & Maheswaran, M., 2003. Molecular marker based genetic diversity analysis in Rice (*Oryza sativa* L.) using RAPD and SSR markers. *Euphytica* **133**, 243-252.
- Romero, G. O., Amante-Bordeos, A. D., Dalmacio, R. D., Elloran, R. & Sitch, L. A., 1993. Comparative study of isozymes in *Oryza sativa*, *O. minuta*, and their interspecific derivatives: evidence for homoeology and recombination. *Theoretical & Applied Genetics* **87**, 609-615.
- Sallaud, C., Lorieux, M., Roumen, E., Therreau, D., Berruyer, R., Svestasrani, P., Garsmeur, O., Ghesquiere, A. & Notteghem, J. L., 2003. Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using QTL mapping strategy. *Theoretical & Applied Genetics* **106**, 794-803.
- Sandhu, S. S., Colombo, C., Bastos, C. R. & Siqueira, W. J., 2003. DNA tagging of blast resistant gene(s) in three brazilian rice cultivars. *Genetics and Molecular Biology* **26 (4)**, 473-476.
- Sensen, C.W., 2002. *Essential of genomics and Bioinformatics*. WILEY-VCH, vedag GmbH, Weinheim.
- Shaw, P. E., 2003. *Molecular marker in Chinese medical materials*. AVI publishing Co., Connecticut.



- Song, Z. P., Lu, B., Wang, B. & Chen, J. K., 2004. Fitness estimation through performance comparison of F<sub>1</sub> hybrids with their parental species *Oryza rufipogon* and *O. sativa*. *Annals of Botany* **93**, 311-316.
- Srinivasachary., Hittalmani, S., Shivayogi, S., Vaishali, M. G., Shashidar, H. E. & Kumar, K. G., 2002. Genetic analysis of rice blast fungus of southern Karnataka using DNA markers and reaction of popular rice genotypes. *Current science* **82**, 732-735.
- Sweeney, M. & McCouch, S., 2007. The complex history of the development of rice. *Annals of Botany*, 1-7.
- Swofford, D. L., Olsen, G. J., Hillis, D. M (pnyt.). & Moritz. C (pnyt.), 1990. *Phylogeny construction*. In: *Molecular systematics*. Sinauer Associates., Sunderland, MA.
- Tabien, R. E., Li, Z., Paterson, A. H., Marchetti, M. A., Stansel, J. W. & Pinson, S. R. M., 2000. Mapping of four major rice blast resistance genes from 'Lemont' and 'Teqing' and evaluation of their combinatorial effect for field resistance. *Theoretical & Applied Genetics* **101**, 1215-125.
- Thomson, M. J., Septiningsih, E. M., Suwardjo, F., Santoso, T. S. & McCouch, S. R., 2007. genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theoretical & Applied Genetics* **114**, 559-568.
- Thuan, N. T. N., Bigirimana, J., Roumen, E., Straeten, D. V. S. & Hofte, M., 2006. Molecular and Pathotype analysis of rice blast fungus in North Vietnam. *European Journal of Plant Pathology* **114**, 381-396.
- Vanaja, T., Randhawa, G. J. & Mammootty, K. P., 2006. Pedigree evaluation and molecular diversity of some true breeding rice (*Oryza sativa* L.) genotypes of Kerala. *Journal of tropical Agriculture* **44**, 42-47.

- Veasey, E. A., Karasawa, M. G., Santos, P. P., Rosa, M. S., Mamani, E. & Oliveira, G. C. X., 2004. Variation in the loss of seed dormancy during after-ripening of wild and cultivated rice species. *Annals of Botany* **94**, 875-882.
- Wu, J. L., Fan, Y. Y., Li, D. B., Zheng, K. L., Leung, H. & Zhuang, J. Y., 2005. Genetic control of rice blast resistance in the durably resistant cultivar Gumei 2 against multiple isolates. *Theoretical & Applied Genetics* **111**, 50-56.
- Xu, K., Deb, R. & Mackill, D. J., 2004. A microsatellite marker and a codominant PCR-Based marker for marker-assisted selection of submergence tolerance in rice. *Crop Science* **44**, 248-253.
- Zhang, Q., Gao, Y. J., Yang, S. H., Ragab, R. A., Maroof, M. A. S. & Li, Z. B., 1994. A diallel analysis of heterosis in elite hybrid rice based on RFLPs and microsatellites. *Theoretical Applied Genetics* **89**, 185-192.
- Zheng, K., Huang, N., Bennett, J. & Khush, G. S., 1995. *PCR-based marker-assisted selection in rice breeding*. International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
- Zhu, H., Blackmon, B. P., Sasinowski, M. & Dean, R. A., 1999. Physical map and organization of chromosome 8 in the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Cold Spring harbor Laboratory* **9**, 739-750.