

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

DUL: Diversiti Molekul Genotip Padi Tanah Kering Dan Semenanjung Malaysia yang Mempunyai Realgi Berbeza ke atas Penyalut Karah.
 AZAH: Ijazah Sarjana Muda (Teknologi Tumbuhan).

AYA NURULASHIKIN BT. ABD HADI. SESI PENGAJIAN: 2003
 (HURUF BESAR)

Sengaku 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

Disahkan Oleh

(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

amat Tetap: Lot 109, Kg Ulu Muju
 18050 KUALA KRAI.
 KELANTAN.

Nama Penyelia

Tarikh: 21/04/06

Tarikh: 21/04/06

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).



DIVERSITI MOLEKUL GENOTIP PADI TANAH KERING
DARI SEMENANJUNG MALAYSIA YANG MEMPUNYAI
REAKSI BERBEZA KE ATAS PENYAKIT KARAH

NURULASHIKIN BINTI ABD HADI

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DISERTASIINI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI
SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI
IJAZAH SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN

PROGRAM TEKNOLOGI TUMBUHAN
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

April 2006

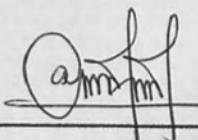


UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

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

10 April 2006



NURULASHIKIN BINTI ABD HADI

HS2003-3475

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



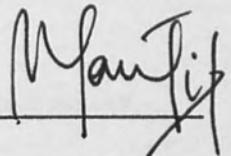
UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DIPERAKUKAN OLEH

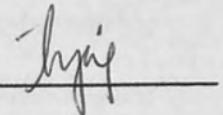
Tandatangan

1. PENYELIA

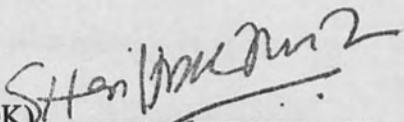
(PROF. MADYA DR. MARIAM AB. LATIP)

**2. PEMERIKSA 1**

(MISS CHEE FONG TYNG)

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**4. DEKAN**

(SUPT. (K) PROF. MADYA DR. SHARIFF A.K OMANG, ADK)

**UMS**
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGHARGAAN

Dengan nama Allah yang Maha Pemurah lagi Maha Mengasihani...

Bersyukur saya kepada Allah S.W.T kerana dengan limpah kurnia dan keizinanNya, kajian ini akhirnya dapat diselesaikan. Setinggi-tinggi penghargaan saya rakamkan kepada Prof. Madya Dr. Mariam Ab. Latip yang banyak memberi bimbingan dan nasihat sepanjang kajian ini dijalankan. Ucapan terima kasih yang tidak terhingga juga diucapkan kepada semua pembantu makmal genetik (Cik Cristina), makmal penyelidikan Bioteknologi, makmal fisiologi haiwan dan Institut Penyelidikan Bioteknologi yang telah banyak memberi tunjuk ajar dan bantuan kepada saya semasa kajian ini dijalankan. Tidak lupa juga kepada pelajar-pelajar pascasiswazah di Makmal Penyelidikan Bioteknologi (Awang dan Helena) yang tidak jemu memberikan tunjuk ajar kepada saya. Ucapan terima kasih juga kepada rakan-rakan seperjuangan yang banyak memberi bantuan dan sokongan di samping bertukar-tukar pendapat sepanjang kajian ini dilaksanakan.

Tidak lupa juga kepada ayahanda dan bonda yang telah memberikan semangat dan kekuatan serta tulang belakang saya dalam usaha meneruskan kajian ini. Pemberian kalian berdua baik dari segi kewangan mahupun sokongan moral tidak akan anakanda lupukan. Segala doa, restu, dan nasihat kalian sentiasa mengiringi perjalanan hidup ini untuk menjadi seorang pelajar yang cemerlang, gemilang dan terbilang. Wallahu alam.

NURULASHIKIN BINTI ABD HADI



ABSTRAK

Kepelbagaian dan jarak genetik di antara 11 sampel padi tanah kering dari Semenanjung Malaysia yang mempunyai interaksi berbeza terhadap penyakit karah telah dianalisis menggunakan 10 penanda mikrosatelite yang berangkai dengan gen rintang penyakit karah dan bersifat polimorfik dengan sejumlah 64 alel telah ditemui pada 10 lokus yang dikaji. Jumlah alel per lokus yang diperolehi berjulat di antara 5 hingga 8 alel dengan purata bilangan alel yang diperolehi dan alel jangkaan, masing-masing bernilai 6.4 dan 5.39. Frekuensi alel tertinggi diperolehi pada lokus RM39 dengan bacaan 0.3750 dan yang terendah pada lokus RM166 dan RM144 dengan bacaan 0.0909. ‘Polymorphic information content’ yang diperolehi berjulat antara 75% hingga 86%. Jarak genetik bagi 11 sampel padi kajian ini berjulat antara 0.0000 dengan 2.0999. Dendogram yang dibina berdasarkan nilai jarak genetik ini dapat dikategorikan kepada dua kelompok utama. Kelopok B menunjukkan hubungan yang rapat terhadap padi yang mempunyai tahap kerintangan yang tinggi yang ditunjukkan pada Mayang Ebos 136, Milek Kuning 3, dan Biji Terong. Kajian ini menunjukkan bahawa penanda mikrosatelite mampu mengesan kepelbagaian genetik bagi sampel padi kajian dan didapati gen rintang telah dijangkakan hadir pada sampel padi yang rintang berikutnya kehadiran alel pada lokus yang berangkai dengan penyakit karah ini. Oleh itu, penggunaan mikrosatelite dapat digunakan dengan meluas dalam program pembiakbakaan bagi menghasilkan padi tanah kering yang superior terhadap penyakit karah.



ABSTRACT

Diversity and genetic distance were conducted on 11 sample dryland rice, collected from Peninsular Malaysia with varying reaction to blast disease. It was analyzed using nine microsatellite primers pairs with ten loci. All microsatellite loci were closely linked to blast disease and also polymorphic. A total of 64 alleles were found within ten loci examined. The numbers of alleles were observed per locus ranged from five to eight alleles. Mean of observed and effective alleles were 6.4 and 5.39, respectively. The percentages of Polymorphic Information Content were ranged from 75% to 86%. The highest frequency was 0.3750 at locus RM39 while the lowest was 0.0909 at locus RM166 and RM144. The genetic distance between 11 samples ranged from 0.0000 to 2.0999. The dendrogram that constructed from genetic distance value were grouped into two major clusters. Cluster B showed that, there have closely relationship between 3 samples which are known have high resistant to blast disease. There are Mayang Ebos 136, Milek Kuning 3, and Biji Terong. This studied, showed that microsatellite marker were useful marker to identified genetic diversity in this examined samples and also expected resistance gene have been found by using this microsatellite which is linked to blast disease. The microsatellite markers should be encouraged to use broadly in breeding program to produce superior dryland rice with high resistance to blast disease.

KANDUNGAN

	Muka surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI RAJAH	x
SENARAI FOTO	xi
SENARAI SINGKATAN	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif kajian	4
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	5
2.1 <i>Oryza sativa</i>	5
2.1.1 Padi tanah kering	6
2.2 Penyakit padi	7
2.2.1 Penyakit karah	8
2.2.2 Gen rintang terhadap penyakit karah	9
2.3 Penanda genetik	11
2.3.1 Penanda morfologi	11



2.3.2 Penanda molekul	12
i. Penanda protein (isozim)	13
ii. <i>Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP)</i>	15
iii. <i>Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)</i>	16
iv. <i>Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP)</i>	17
v. <i>Simple Sequence Repeat (SSR/Mikrosatelit)</i>	19
BAB 3 BAHAN DAN KAEADAH	
3.1 Sampel kajian	22
3.2 Penanda mikrosatelit	24
3.3 Metodologi kajian	26
3.3.1 Penyediaan sampel padi kajian	28
3.3.2 Proses pengekstrakkan DNA	28
3.3.3 Penentuan kualiti dan kuantiti DNA menggunakan elektroforesis	
0.8% gel agaros	30
3.3.4 Amplifikasi DNA dengan tindakbalas rantai polimerase (PCR)	31
3.3.5 Analisis produk PCR menggunakan elektroforesis 3% gel MetaPhor	33
3.3.6 Penskoran jalur	34
3.3.7 Analisis data	35
BAB 4 KEPUTUSAN	38
BAB 5 PERBINCANGAN	50
BAB 6 KESIMPULAN	57
RUJUKAN	68
LAMPIRAN	78



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
3.1 Koleksi sampel padi tanah kering dari Semenanjung serta tahap kerintangannya terhadap penyakit karah	24
3.2 Senarai jenis penanda mikrosatelit yang diketahui gen rintang bagi penyakit karah yang terdapat pada kromosom bagi subspesies tertentu	25
3.3 Primer mikrosatelit padi	26
3.4 Campuran amplifikasi PCR	33
3.5 Program PCR	33
4.1 Saiz alel yang dicerap pada genotip padi yang sensitif dan rintang terhadap penyakit karah menggunakan lokus-lokus tertentu	43
4.2 Rumusan statistik bilangan alel cerapan, alel efektif, dan peratusan PIC	46
4.3 Frekuensi alel bagi setiap lokus mikrosatelit kajian	47
4.4 Jarak genetik (Nei's 1978) bagi 11 sampel padi tanah kering Semenanjung Malaysia	49



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
3.1 Carta aliran metodologi kajian	28
3.2 Skema penskoran jalur produk PCR	35
4.1 Dendogram menunjukkan hubungan genetik 11 genotip padi tanah kering dari Semenanjung Malaysia berdasarkan jarak genetik Nei's (1978)	50

SENARAI FOTO

No. Foto	Muka Surat
4.1 Penentuan DNA sampel padi kajian menggunakan elektroforesis 0.8% gel agaros	40
4.2 Kedudukan jalur-jalur produk PCR pada lokus RM207 bagi sampel padi kajian setelah dielektroforesis menggunakan 3% gel MetaPhor	41
4.3 Bentuk polimorfisma dalam DNA padi daripada 11 genotip padi tanah kering menggunakan penanda mikrosatelite RM166	42



SENARAI SINGKATAN

AFLP	Amplified fragment length polymorphism
dH ₂ O	Air suling
DNA	Asid deoksiribonukleik (deoxyribonucleic acid)
dNTP	Deoksiribonukleik trifosfat (deoxyribonucleotide triphosphate)
EtBr	Etidium bromida (ethidium bromide)
EtOH	Etanol (ethanol)
<i>g</i>	Graviti (gravity)
kb	kilo pasangan bes (kilo base pair)
PCR	Tindakbalas rantai polimerase (Polymerase Chain Reaction)
RAPD	Random amplified polymorphic DNA
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
RM	Mikrosatelit padi (rice microsatellite)
SSR	Simple Sequence Repeat
TAE	Tris-Aacetat-EDTA
TBE	Tris-Borik-EDTA
TE	Tris-EDTA
TEN	Tris-EDTA-NaCl
µl	Mikroliter (microliter)



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Secara amnya, tanaman padi terbahagi kepada dua jenis iaitu tanaman padi sawah dan tanaman padi tanah kering. Tanaman padi tanah kering adalah sejenis tanaman padi yang ditanam secara tradisional di kawasan tanah kering dan ia bergantung kepada air hujan untuk mengekalkan kelembapannya. Walaupun aplikasi dalam penanaman padi ini mudah dan tidak melibatkan banyak air namun penanamannya disekitar semenanjung Malaysia amat kurang dibandingkan dengan Sabah dan Sarawak. Ini mungkin disebabkan oleh faktor topografi dan cuaca di Semenanjung Malaysia yang tidak sesuai untuk penanaman padi tanah kering.

Selain itu, padi tanah kering atau lebih dikenali sebagai padi huma, adalah jenis padi yang mudah di serang oleh penyakit dan perosak. Ini mungkin salah satu faktor penghad penanaman padi jenis ini disekitar Semenanjung Malaysia kerana ia kurang mendatangkan keuntungan untuk diaplikasikan. Antara penyakit yang mudah menyerang



tanaman padi tanah kering adalah penyakit karah. Dikatakan penyakit karah ini antara penyakit yang serius menyerang tanaman padi tanah kering. Ia disebabkan oleh kulat patogen yang dikenali sebagai *Pyricularia grisea* Sacc (Rossman *et al.*, 1990). Kulat ini biasanya menyerang tanaman padi pada peringkat penanaman yang boleh menyebabkan pertumbuhan padi terbantut dan memusnahkan padi yang peka dan sensitif.

Bagaimanapun, perkembangan kajian dalam bidang diversiti penyakit karah yang menyerang tanaman padi amat penting untuk menghasilkan padi yang rintang terhadap penyakit tersebut. Seperti di negara Korea Selatan yang banyak menanam padi dari subspesies japonika, mereka mendapati padi jenis ini mudah mendapat penyakit karah kerana diversiti genetiknya yang kecil dan tidak mempunyai banyak gen yang mampu merintangi serangan *Pyricularia oryza* (Jeung *et al.*, 2004). Di Semenanjung Malaysia juga terdapat kepelbagaian dalam kerintangan terhadap penyakit karah kerana ada di antara padi tanah kering Semenanjung Malaysia yang diketahui tahap kerintangannya seperti rintang, separuh rintang, dan tidak rintang terhadap penyakit ini. Antara varieti padi yang rintang ialah Anak Ikan China dan Mayang EBOS 136, manakala varieti yang separuh rintang adalah Sachupak dan Engkatek, dan Mahsuri pula adalah contoh padi yang tidak rintang penyakit karah (MARDI).

Oleh itu, maklumat genetik diperlukan untuk menghasilkan pembiakbakaan padi yang efektif dan rintang terhadap penyakit karah. Dengan menggunakan strategi pada keturunan padi untuk mengesan kombinasi gen yang rintang, ia mampu menyekat kulat ini dari menyerang tanaman padi ini (Zeigler *et al.*, 1995). Padi yang rintang terhadap

penyakit karah boleh dikenal pasti melalui penanda molekul tertentu selain menggabungkan gen untuk hasilkan padi yang rintang (Wang *et al.*, 1994). Antara penanda genetik molekul yang kerap digunakan adalah *restriction fragment length polymorphisms* (RFLP) (Botstein *et al.*, 1980), *random amplified polymorphic DNA* (RAPD) (Welsh & McClelland, 1990 ; Williams *et al.*, 1990), *amplified fragment length polymorphism* (AFLP) (Vos *et al.*, 1995) , dan mikrosatelit atau *simple sequence repeat* (SSR) (Tautz, 1989).

Mikrosatelit adalah penanda molekul lebih popular digunakan dalam bidang pembiakbakaan dan kajian genetik diversiti tumbuhan. Ini disebabkan oleh kelebihan yang ada padanya iaitu bilangannya yang banyak, wujud dalam bentuk alel yang berlainan (*hypervariability*), kodominan, mudah diaplikasikan dan bebas daripada pengaruh persekitaran (McCouch *et al.*, 1997). Ia berpunca dari variasi turutan bes-bes segmen DNA yang bersaiz pendek (1-6 pasangan bes) pada lokus tertentu (Brown, 1996). Selain itu, mikrosatelit juga sesuai digunakan untuk mengesan kepelbagaiannya genetik sesuatu populasi organisma. Ini disebabkan oleh perbezaan dalam kepanjangan turutan bes pada lokus SSR yang boleh dikesan dengan melakukan amplifikasi DNA sampel kajian melalui proses tindakbalas rantai polimerase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR). Biasanya, produk PCR dinilai menggunakan gel elektroforesis untuk menentukan perbezaan alel yang wujud pada sampel-sampel DNA kajian.

1.2 Objektif Kajian

Penyelidikan kajian ini dijalankan adalah untuk mencapai objektif seperti berikut;

- i. Menggunakan penanda molekul mikrosatelite untuk menentukan kepelbagaiaan genetik sampel padi tanah kering dari Semenanjung Malaysia yang mempunyai reaksi berbeza terhadap penyakit karah.
- ii. Menentukan jarak genetik sampel padi dan menentukan hubungan genetik menggunakan dendogram.

BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 *Oryza sativa*

Oryza sativa adalah nama botani bagi tanaman padi yang merupakan tanaman makanan utama penduduk dunia terutamanya di negara Asia. Lebih daripada 90% hasil padi dunia berasal dari Asia, iaitu negara China dan India adalah negara pengeluaran padi terbesar (Reed, 1976) dan ia tergolong dalam tanaman bijirin rerumput semi-akuatik. Padi berasal daripada keluarga *Gramineae* atau *Poaceae* dan mempunyai sub-keluarga *Oryzoideae*. Tanaman ini juga berada di dalam kumpulan *Oryzae* dan nama genusnya ialah *Oryza* (Martin *et al.*, 1976). *O. sativa* adalah antara tanaman monokot diploid ($2n=24$) dengan saiz genom ($C=0.6pg$) yang paling kecil, iaitu dianggarkan lebih kurang 450 Mbp bertaburan di dalam 12 pasangan kromosom (McCouch *et al.*, 1988 ; Dean dan Schmidt, 1995).

Sebagai tanaman makanan utama di Asia, *O. sativa* telah dibahagikan kepada dua jenis subspecies yang dikenali sebagai *indica* dan *japonica* bergantung kepada sifat morfologi dan fisiologinya (Oka, 1988). Perbezaan di antara subspecies *indica* dan



japonica ini telah mula dilaporkan oleh Kato (1930). Padi dari subspesies *indica* adalah padi yang banyak ditanam dan diusahakan kerana ia amat sesuai di kawasan tropika serta sensitif terhadap suhu sejuk. Bagi subspesies *japonica* pula, ia terdiri daripada varieti jenis iklim tropika dan sederhana dan masing-masing dikenali sebagai *javanica* dan *japonica* (Oka, 1991). Padi dari subspesies ini banyak di tanam di Asia barat, Amerika Utara dan Amerika Selatan, dan kebanyakkan negara Eropah serta mampu menyumbangkan 20% penghasilan padi dunia (Mackill, 1995). Bagaimanapun, diversiti genetik bagi padi *japonica* adalah lebih rendah daripada padi *indica* (Glaszmann, 1987; Zhang *et al.*, 1992).

2.1.1 Padi tanah kering

Padi tanah kering adalah jenis padi yang ditanam secara tradisional oleh petani sebagai tanaman sara diri. Ia boleh dibahagikan kepada dua jenis iaitu padi kedinga dan padi bukit. Padi kedinga adalah padi yang ditanam di kawasan tanah rendah dalam keadaan tanah tidak berair manakala padi bukit atau padi huma ditanam di sekitar kaki bukit tanpa saliran air yang baik. Padi jenis ini mempunyai hasil yang rendah dan kurang bermutu. Ini disebabkan oleh keadaan penanaman padi cara lama dan kurang menggunakan baja serta daripada benih yang kurang baik. Ia juga tidak dijaga dengan baik menyebabkannya mudah mendapat serangan penyakit dan serangga perosak.

Penanaman padi tanah kering di seluruh dunia dikatakan telah meningkat dari 14 million hektar pada tahun 1974 kepada 20 million hektar pada tahun 1984 (Arraudeua &

Harahap, 1986). Selain itu, Kang dan Juo (1984) pula menyatakan bahawa padi jenis ini selalunya ditanam bersama tanaman yang lain seperti jagung dan keladi secara penanaman bergilir. Di Malaysia, kawasan penanaman padi tanah kering meliputi 15% dari jumlah keseluruhan kawasan penanaman dan 85% adalah penanaman padi berair (MARDI, 2002). Bagaimanapun, sejumlah besar penanaman padi ini ditanam di Sabah dan Sarawak. Penanaman padi di Semenanjung Malaysia adalah kurang, mungkin disebabkan oleh faktor topografi Semenanjung Malaysia yang kurang sesuai untuk penanaman padi tanah kering.

2.2 Penyakit padi

Tanaman padi adalah tanaman makanan yang sering mendapat serangan penyakit dan ia mampu merendahkan produktiviti hasil makanan utama dunia. Antara penyakit yang sering menyerang tanaman makanan ini adalah disebabkan oleh kumpulan patogen seperti bakteria dan kulat.

Terdapat banyak penyakit yang yang disebabkan oleh patogen bakteria (Mew, 1989). Antaranya ialah penyakit hawar daun bakteria (*bacterial leaf streak*) dan hawar bakteria (*bacterial blight*). Penyakit hawar daun bakteria telah dilaporkan di negara Asia dan Afrika dan biasanya berlaku pada padi tanah rendah dan tinggi semasa musim hujan. Manakala penyakit hawar telah dilaporkan dan dikaji untuk beberapa abad lamanya (Ou, 1985).

Di kalangan 80 jenis penyakit padi yang telah dikenali, penyakit yang disebabkan oleh kumpulan patogen kulat adalah penyakit utama yang menyerang tanaman ini. Ou (1985) telah menyenaraikan sebanyak 40 penyakit kulat pada tanaman padi dan hampir 50% penyakit padi adalah disebabkan oleh patogen kulat. Antara penyakit yang disebabkan oleh kulat ini ialah penyakit karah (*blast*), penyakit bintik kecil (*brown spot*), penyakit smut hitam palsu (*false smut*) dan lain-lain. Bagaimanapun, di kalangan penyakit yang disebabkan oleh kulat ini, hanya penyakit karah yang diberikan tumpuan yang amat meluas sejak dulu lagi (Ou, 1985).

2.2.1 Penyakit karah

Penyakit utama yang banyak menyerang tanaman padi adalah penyakit karah. Penyakit ini disebabkan oleh sejenis kulat patogen yang dikenali sebagai *Pyricularia grisea* Sacc atau lebih dikenali sebagai *Pyricularia oryzae* Cav. (Rossman *et al.*, 1990).

Pyricularia oryzae adalah kulat yang banyak menyerang tanaman padi dari subspecies *indica* dan *japonica* di seluruh dunia. Oleh itu, maklumat genetik diperlukan untuk menghasilkan pembibitan padi yang efektif dan rentang terhadap penyakit karah. Padi yang rentang terhadap penyakit karah boleh dikenal pasti melalui penanda molekul tertentu selain menggabungkan gen untuk hasilkan padi yang rentang (Wang *et al.*, 1994). Dengan menggunakan strategi pada keturunan padi untuk mengesan kombinasi gen yang rentang, ia mampu menyekat kulat ini dari menyerang tanaman padi ini (Zeigler *et al.*, 1995).

Daripada kajian lepas, didapati padi dari subspesies *japonica* yang banyak ditanam di Korea Selatan mudah mendapat penyakit karah kerana diversiti genetiknya yang kecil dan tidak mempunyai banyak gen yang mampu merintangi serangan *P. oryzae*. Oleh itu, ia sangat penting untuk mengenalpasti sumber genetik baru dengan kerintangan spektrum yang luas untuk kepelbagaiannya isolasi terhadap kulat penyakit karah. Biasanya gen yang rentang terhadap penyakit karah ditemui pada biji benih padi yang diusahakan. Namun, padi dari subspesies liar *O. minuta* juga mempunyai gen rentang iaitu *Pi9(t)* (Amante-Bordeos *et al.*, 1992). Ini menyebabkan, terdapat cadangan yang menyatakan bahawa mungkin terdapat gen rentang bagi penyakit karah pada padi liar daripada genus *Oryza*.

2.2.2 Gen rentang terhadap penyakit karah

Sebanyak 20 gen yang rentang terhadap beberapa kulat patogen bagi penyakit karah telah dikenalpasti (McCouch *et al.*, 1994). Ini adalah hasil daripada beberapa kajian di negara China, Jepun dan *International Rice Research Institute* (IRRI) di Filipina. Pada tahun 1989, analisis gen tentang penyakit karah telah dilakukan di negara China (Zhao dan Lin 1989 ; Pan *et al.*, 1991 ; Lei *et al.*, 1995). Tujuan analisis ini dilakukan adalah untuk meluaskan diversiti genetik bagi kerintangan penyakit padi di China Utara. Pusat diversiti genetik bagi hasil tanaman padi *O. sativa* terletak di Yunnan Province yang terletak di negara China Selatan (Wang, 1993). Oleh itu, Ling *et al* (1990) telah menyelidik kultivar padi bagi negara China yang diperolehi dari Yunnan Province. Dalam kajian ini, mereka telah menguji 596 kultivar padi dengan tujuh bentuk reaksi terhadap *Pyricularia grisea*

yang berbeza. Daripada 596 kultivar yang diuji, didapati 371 kultivar menunjukkan tahap kerintangan yang tinggi terhadap ketujuh-tujuh jenis *P. grisea* dan telah disifatkan kepada jenis Toride 1 yang membawa gen *PiZ*.

Di Jepun, satu kajian yang sistematik telah dilakukan terhadap kerintangan penyakit karah ini. Daripada kajian ini, Kiyosawa dan rakan-rakannya (1990) telah mengenal pasti 14 alel yang rentang pada lapan loci tertentu. Antaranya ialah *Pi-a*, *Pi-i*, *Pi-k* (alel: *Pi-k*, *Pi-k^s*, *Pi-k^m*, *Pi-k^b-Pi-k^p*), *Pi-Z* (alel: *Pi-z* dan *Pi-z'*), *Pi-ta* (alel: *Pi-ta* dan *Pi-ta^r*), *Pi-b*, *Pi-t* dan *Pi-sh*. Alel yang dijumpai dalam kultivar padi semulajadi Jepun adalah *Pi-a*, *Pi-i*, *Pi-k*, *Pi-sh* manakala alel *Pi-k*, *Pi-k^m*, *Pi-z* telah dijumpai pada kultivar Jepun yang rentang penyakit karah. Bagi alel-alel *Pi-k^b*, *Pi-k^p*, *Pi-z'*, *Pi-ta*, *Pi-ta^r*, *Pi-b* dan *Pi-t*, ia telah dijumpai pada garisan pembiakbakaan Jepun yang mempunyai kerintangan penyakit karah dan telah diperkenalkan daripada kultivar indika. Ini membuktikan setiap jenis kultivar hanya boleh membawa satu jenis gen tunggal yang rentang bagi penyakit karah (Kiyosawa dan Ando, 1990).

Bagaimanapun, *International Rice Research Institute* (IRRI) di Filipina telah memperkembangkan satu set *near-isogenic lines* (NILs) untuk gen rentang penyakit karah. Berikutan itu, gen *Pi-1(t)*, *Pi-2(t)*, *Pi-3(t)*, *Pi-4^a(t)* dan *Pi-4^b(t)* telah dikenal pasti (Mackill dan Bonman 1992). Kemudian Yu *et al* (1991) telah memetakan gen *Pi-2(t)* pada kromosom 6 dan *Pi-4(t)* pada kromosom 12 melalui penggunaan penanda molekul *restriction fragment length polymorphism* (RFLP). Zhu *et al* (1993) telah mengenal pasti *Pi-zh(t)* pada kromosom 8 menggunakan *randomly amplified polymorphic DNA* (RAPD)



RUJUKAN

- Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inakagi, dan T. Fujimura, 1997. Highly polymorphic microsatellites of rice consist of AT repeats, and a classification of closely related cultivars with these microsatellite loci. *Theor Appl Genet* **94**, 61-67.
- Alvarez, A., Fuentes, J. L., Deus, J. E., Miriam, C. D., dan Cornie, M. T., 2000. Genetic analysis in rice mutans using isozyme and morphological markers. *Cultivos Tropicales* **21**, 39-44.
- Amante-Bordeos A., L. A. Sitch, R. Nelson, R. D. Dalmacio, N. P. Oliva, H. Aswidinoor and H. Leung, 1992. Transfer of bacterial blight and blast resistance from the tetraploid wild rice *Oryza minuta* to cultivated rice, *Oryza sativa*. *Theor Appl Genet* **84**, 345-354.
- Aquadro, C. F., Noon, W. A., Begun, D. J., dan Danforth, B. N., 1998. RFLP analysis using heterologous probes. Dlm: Hoelzel, A. R. (pnyt.), *Molecular genetic analysis of populations*. Oxford University Press, New York. m.s.151-152.
- Arraudeau, M., dan Harahap, M., 1986. Relevant upland rice breeding objectives. In F. J. Shielder, ed. *Progress in upland rice research. Proc. 1985. Jakarta Conf.* Manila, IRRI.

Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A., dan Struhl, K. (pnyt.), 1999. *Short Protocols in Molecular Biology*. Ed. ke-4. John Wiley & Sons, Inc., London. m.s. 62-78.

Ballvora, A., Hesselbach, J., Niewohner, J., Leister, D., Salamini, F., dan Gebhardt, C., 1995. Marker enrichment and high-resolution map of the segment of potato chromosome VII harbouring the nematode resistance gene *Gro1*. *Mol Gen Genet* **249**, 82-90.

Becerra Velasquez, V. B., dan Gepts, P., 1994. RFLP diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris*) in its centers of origin. *Genome* **37**, 256-263.

Becker, J., Vos, P., Kuiper, M., Salamini, F., dan Heun, M., 1995. Combined mapping of AFLP and RFLP markers in barley. *Mol Gen Genet* **249**, 65-73.

Bell, C. J., dan Ecker, J. R., 1994. Assignment of 30 microsatellite loci to the linkage map of *Arabidopsis*. *Genomics* **19**, 137-144.

Botstein, D. R., White, R. L., Skolnick, M., dan Davis, R. W., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* **32**, 314-331.

Brar, D. S., Delos Reyes, B. G., Panaud, O., Sanchenz, A., dan Khush, G. H., 1991. Genetic mapping in rice using isozymes and RFLP markers. Dlm: Rice Genetic II. Philippines, IRRI. m.s.137-145.

Brown, S. M., 1996. Development and application of simple sequence repeat (SSR) loci for plant genome analysis. *Methods of Genome Analysis in Plants*. m.s.147-162.

Brown, S. M., Hopkins, M. S., Mitchell, S. E., Senior, M. L., Wang, T. Y., Duncan, R. R., Gonzalez-Candelas, F., dan Kresovich, S., 1996. Multiple methods for the identification of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Theor Appl Genet* **93**, 190-198.

Causse, M. A., Fulton, T. M., Cho, Y. G., Ahn, S. N., Chunwongse, J., Wu, K. S., Xiao, J. H., Yu, Z. H., Ronald, P. C., Harrington, S. E., Second, G., McCouch, S. R., dan Tanksley, S. D., 1994. Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. *Genetics* **138**, 1251-1274.

Cavalli-Sforza, L. L., dan W. F. Bodmer, 1971. *The Genetics of Human Populations*. San Francisco: W. H. Freeman.

Chai, Y. T., Chai, M., dan M. S., Saad, 1990. Pembibakaan Tumbuhan. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur, 24-32.

- Chen, X., S. Temnykh, Y. Xu, Y. G. Cho, dan S. R. McCouch, 1997. Development of microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* **95**, 553-567.
- Coulibaly, S., Pasquet, R. S., Papa, R., dan Gepts, P., 2002. AFLP analysis of the phenetic organization and genetic diversity of *Vigna unguiculata* L. Walp. Reveals extensive gene flow between wild and domesticated types. *Theor Appl Genet* **104**, 358-366.
- Davierwala, A. P., Chowdari, K. V., Kumar, S., Peddy, A. P. K., Ranjekar, P. K., dan Gupta, V. S., 2000. Use of three different marker systems to estimate genetic diversity of Indian elite rice varieties. *Genetica* **108**, 269-384.
- Folkerstma, R. T., Vandervoort, J. N. A. M. R., Degroot, K. E., Vanzandvoort, P. M., Schots, A., Gommers, E. J., Helder, J., dan Bakker, J., 1996. Gene pool similarities of potato nematode populations assessed by AFLP analysis. *Mol Plant-Microbe Interac* **9**, 47-54.
- Ford, E. B., 1940. Polymorphism and taxonomy. In L. Huxley (ed). *The New Systematics*. Oxford, UK: Clarendon Press.

Fuentes, J. L., Escobar, F., Alvarez, A., Gallego, G., Miriam, C. D., Ferrer, M., Dues, J. E., dan Tohme, J. M., 1999. Analysis of genetic diversity in Cuban rice varieties using isozyme, RAPD and AFLP markers. *Euphytica* **109**, 107-115.

Garland, S. H., Lewin, L., Abedinia, M., Henry, R., dan Blakeney, A., 1999. The use of microsatellite polymorphisms for the identification of Australian breeding lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* **108**, 53-63.

Glaszmann, J. C., 1985. A varietal classification of Asian cultivated rice (*Oryza sativa* L.) based on isozyme polymorphism. Dlm: Rice Genetics. Philippines: IRRI, m.s.83-90.

Glaszmann, J. C., 1987. Isozymes and classification of Asian rice varieties. *Theor Appl Genet* **74**, 21-30.

Halward, T. M., Stalker, H. T., La Rue, E. A., dan Kochert, G., 1992. Genetic variation detectable with molecular markers among unadapted germplasm resources of cultivated peanut and related wild species. *Plant Mol Biol* **18**, 315-325.

Harbant Singh, 1992. Penyakit Tanaman Di Negara Tropika dan Pengawalannya. *Pengenalan Patologi Tumbuhan*. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur, 114-115.

Hartl, D. L. dan Clark, A. G., 1989. *Principle of Populations Genetics*. Edisi ke-2. Sinauer Associates, Inc. Publisher, California. m.s.16-19.

He, G., Prakash, C. S., dan Jarret, R. L., 1995. Analysis of genetic diversity in a sweetpotato (*Ipomoea batatas*) germplasm collection using DNA amplification fingerprinting. *Genome* **38**, 938-945.

Hedrick, P. W., 1999. *Genetics of populations*. Jones and Barlett Publishers, London. m.s.73-85.

Heun, M., Murphy, J. P., dan Phillips, T. D., 1994. A comparison of RAPD and isozyme analyses for determining the genetic relationships among *Avena sterilis* L. accessions. *Theor Appl Genet* **87**, 689-696.

Hoelzel, A. R., dan Green, A., 1998. PCR protocols and population analysis by direct DNA sequencing and PCR-based DNA fingerprinting. Dlm: Hoelzel, A. R. (pnyt.), Molecular genetic analysis of population. Oxford University Press, New York. m.s.230-232.

Hongtrakul, V., Huestis, G. M., dan Knapp, S. J., 1997. Amplified fragment length polymorphisms as a tool for DNA fingerprinting sunflower germplasm: genetic diversity among oilseed inbred lines. *Theor Appl Genet* **95**, 400-407.

Innan, H., R. Terauchi, dan N. T. Miyashita, 1997. Microsatellite polymorphism in natural populations of the wild plant *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* **146**, 1441-1452.

Ishii, T., Xu, Y., dan McCouch, S. R., 2001. Nuclear- and chloroplast- microsatellite variation in A- genome species of rice. *Genome* **44**, 658-666.

Jain, A., Bhatia, S., Banga, S. S., Prakash, S., dan Lakshmikumaran, 1994. Potential use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique to study the genetic diversity in Indian mustard (*Brassica juncea*) and its relationship to heterosis. *Theor Appl Genet* **88**, 116-122.

J. U., Jeung, S. S., Han, Y. C., Cho, H. G., Hwang, H. C., Choi, H. P., Moon., M. H., Lee, D. S., Brar, D. J., Mackill, dan K. K., Jena, 2004. Identification of a new source of resistance to blast isolates of Korea in an alien introgression line of rice. *Genetics of disease and insect resistance* **20**.

John, M. P., 1979. *Breeding Field Crops*. The AVI Publishing Company, Inc, Westport. ms 203-225.

Kang, B. T., dan Juo, A. S. R., 1984. Review of soil fertility management and cropping system for wetland rice production in West Africa. In *An overview of upland rice research. Proc. 1982 Bouake Cof. Los Banos, the Philipines*, IRRI.

Karcher, S. J., 1995. *Molecular Biology: A Project Approach*. Academic Press, Inc.
London. m.s. 78-227.

Kato, S., 1930. On the affinity of rice plants, *O. sativa* L. *J. Dept. Agr. Kyushu Imp. Univ*
2, 241-276.

Kiyosawa, S., and I. Ando, 1990. Blast resistance. In: T. Mastumo (ed.), *Science of the Rice Plant*, Vol. 3. Genetics, 361-385. Nosan-gyoson Bunka Kyokai, Tokyo, Japan. (In Japanese)

Klug, W. S. dan Cummings, M., 1997. *Concepts of Genetics*. Edisi ke-5. Prentice Hall.
London. m.s. 235-250.

Kurata, N., Nagamura, Y., Yamamoto, K., Harushima, Y., Sue, N., Wu, J., Antonio, B. A., Shomura, X., Shimiza, T., Lin, S. Y., Inoue, T., Fukuda, A., Shimana, T., Kuboki, Y., Toyama, T., Miyamoto, Y., Kiriwhara, T., Hayasaka, K., Miyao, A., Monna, L., Zhong, H. S., Tamura, Y., Wang, Z. X., Momma, T., Umehara, Y., Yano, M., Sasaki, T., dan Minobe, Y., 1994. A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences. *Nature Genet* **8**, 365-372.

Lei, C., J. Wang, and Z. Ling, 1995. Gene analysis of two Japonica varieties Haobian-1 and Zhamianni-1 from Yunnan Province for their resistance to blast fungus. *Sci Agri Sinica* **28**, 66-71. (In Chinese)



- Lewontin, 1972. The apportionment of human diversity. *Evol. Biol.* **6**, 381-398.
- Li, G., dan Quiros, C. F., 2001. Sequencing-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theor Appl Genet* **103**, 455-461.
- Litt, M., dan Luty, J. A., 1989. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet* **44**, 397-401.
- Lopez-Brana, I., Romero, M. D., dan Delibes, A., 1996. Analysis of *Heterodera avenae* populations by the random amplified polymorphic DNA technique. *Genome* **39**, 118-122.
- Lu, J., Knox, M. R., Ambrose, M. J., Brown, J. K. M., dan Ellis, T. H. N., 1996. Comparative analysis of genetic diversity in pea assessed by RFLP-and PCR-based methods. *Theor Appl Genet* **93**, 1103-1111.
- Mackill, D. J., 1995. Classifying Japonica rice cultivars with RAPD markers. *Crop Sci* **35**, 889-894.
- Mackill, D.J., and J.M. Bonmann, 1992. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. *Phytopathol* **82**, 746-749.

Maguire, T. L., Peakall, R., dan Saenger, P., 2002. Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) detected by AFLPs ad SSRs. *Theor Appl Genet* **104**, 388-398.

Malaysian Agricultural Research Development Institute, MARDI. 2002. Laporan Tahunan, Kuala Lumpur: MARDI.

Markert, C. L., dan Moller, F. F., 1959. Multiple form of enzymes: tissue, ontogenetic and species patterns. *Proc Natl Acad Sci USA* **45**, 753-763.

Martin, H.J., Leonard, H.W. dan Stamp, L.D., 1976. *Principle of Field Crops Production*. 3th Edition. Macmillan Publishing Co. Inc., New York. m.s. 101-115.

McCouch S.R., R.J. Nelson, J., Tohme dan R.S. Zeigler, 1994. Mapping of blast resistance genes in rice. In: Zeigler R.S., Leong S.A., Teng P.S.(ed.) Rice blast disease. CAB International, Wallingford, UK, 167-186.

McCouch, S. R., Chen, X., Panaud, O., Temnhkh, S., Xu, Y., Cho, Y. G., Huang, N., Ishii, T., dan Blair, M., 1997. Microsatellite marker development, mapping and application in rice genetics and breeding. *Plant Mol Biol* **35**, 89-99.



- McCouch, S.R., Kochert, G., Yu, Z.H., Wang, Z.Y., Khush, G.S., Coffman, W.R. dan Tanksley, S.D., 1988. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor Appl Genet* **75**, 815-829.
- Meksem, K., Leister, D., Peleman, J., Zabeau, M., Salamini, F., dan Gebhardt, C., 1995. A high-resolution map of the viewing of the *RI* locus on chromosome V of potato based on RFLP and AFLP markers. *Mol Gen Genet* **249**, 74-81.
- Mew, T. W., 1989. An overview of the world bacterial blight situation. In *Proc. Bacterial Blight of Rice*, 7-12. Los Baños, Philippines:IRRI.
- Miller, S. A., Dykes, D. D., dan Polesky, H. F., 1998. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* **16**, 1215.
- Morgante, M., dan Olivieri, A. M., 1993. PCR amplified microsatellites in plant genetics. *Plant J* **3**, 175-182.
- Nagaraju, J., M. K., R. Ramesh, dan E. Hasnain, 2002. Genetic Analysis of Traditional and Evolved Basmati and Non-Basmati Rice Varieties by Using Fluorescence Based ISSR-PCR and SSR Markers. *Agricultural Sciences* **99**, 9-22.
- Nei, 1972. genetic distance between populations. *Amer. Nat.* **106**, 283-292.

- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from number of individuals. *Genetics* **89**: 583-590
- Oka, H.I., 1988. Origin of cultivated rice. Elsevier, Tokyo.
- Oka, H.I., 1991. Genetic diversity of wild and cultivated rice. In: Khush, G.S., Toennissen GN (eds) *Rice biotechnology*. CAB International, Wallingford, 55-81.
- Olufowole, J. O., Xu, Y., Chen, X., Park, W. D., Beachel, H. M., Dilay, R. H., Goto, M., dan McCouch, S. R., 1997. Comparative evaluation of within-cultivar variation of rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite and RFLP markers. *Genome* **40**, 370-378.
- Ou, S. H., 1985. *Rice diseases*. 2nd ed. Kew, England : Commonwealth Mycol. Inst.
- Palombi, M., dan Damiano, C., 2002. Comparison between RAPD and SSR molecular markers in detecting genetic variation in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* A. Chev.). *Plant Cell Reports* **20**, 1060-1066.
- Pan, Q.H., L. Wang, H. Ikehashi, dan T. Tanisaka, 1996. Identification of a new blast resistance gene in the indica rice cultivar Kasalath using Japanese differential cultivars and isozyme markers. *Phytopathol* **86**, 1071-1075.

Pan, Q.H., Z. Ling, dan J. Wang, 1991. Gene analysis of blast resistance of two japonica varieties from Yunnan Province. *Chinese J Rice Science* 5, 61-66. (In Chinese)

Panaud, O., Chen, X., dan McCouch, S. R., 1996. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa L.*). *Mol Gen Genet* 252, 597-607.

Plaschke, J., Ganal, M. W., dan Roder, M. S., 1995. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor Appl Genet* 91, 1001-1007.

Powell, W., Machray, G. C., Provan, J., 1996. Polymorphisms revealed by simple sequence repeats. *Trends Plant Sci* 1: 215-222.

Purba, A. R., Noyer, J. L., Baudoin, L., Perrier, X., Hamon, S., dan Lagoda, P. J. L., 2000. A new aspect of genetic diversity of Indonesian oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) revealed by isoenzyme and AFLP markers and its consequences to breeding. *Theor Appl Genet* 101, 956-961.

Qian, W., Ge., S. dan Hong, D. Y., 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. *Theor Appl Genet* 102, 440-449.



- Rafalski, J. A., dan Tingey, S. V., 1993. Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellite and machines. *Trends Genet* **9**, 275-280.
- Ramser, J., Lopez-peralta, C., Wetzel, R., Weising, K., dan Kahi, G., 1996. Genomic variation and relationships in aerial yam (*Dioscorea bulbifera* L.) detected by random amplified polymorphic DNA. *Genome* **39**, 17-25.
- Reed, C.F., 1976. Information summaries on 1000 economic plants. Typescripts submitted to the USDA.
- Rossmann, A.Y., Howard, R.J., dan Valent, B., 1990. Pyricularia grisea, the correct name for the rice blast disease fungus. *Mycologia* **82**, 509-512.
- Saghai-Marof, M. A., R. M. Biyashev, G. P. Yang, Q. Zhang, dan R. W. Allard, 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 5466-5470.
- Saito, A., Yano, M., Kishimoto, N., Nakagahra, M., Yoshimura, A., Saito, K., Kuhara, S., Ukai, Y., Kawase, M., Nagamine, T., Yoshimura, S., Ideta, O., Ohsawa, R., Rayano, Y., Iwata, N., dan Sugiura, M., 1996. Linkage map of restriction fragment length polymorphism loci in rice. *Jpn J Breed* **41**, 665-670.

Schlötterer, C., 1998. Microsatellite . Dlm: Hoelzel, A. R., (pnyt), *Molecular genetic analysis of populations*. Oxford University Press, New York. m.s.237-261.

Sharma, S. K., Knox, M. R., dan Ellis, T. H. L., 1996. AFLP analysis of the diversity and phylogeny of lens and its comparison with RAPD analysis. *Theor Appl Genet* **93**, 751-758.

Snustad, P. D., dan Simmons, M.J., 1999. *Principle of Genetics*. Ed. Ke-2. John Wiley & Sons, Inc., New York. m.s.774-804.

Stellwagen, N. C., 1998. DNA Gel Electrophoresis. Dlm: Tietz. D. (pnyt.), *Nucleic Acid Electrophoresis*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York. ms. 1-45.

Stiles, J. I., Lemme, C., Sondur, S., Morshidi, M. B., dan Manshardt, R., 1993. Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. *Theor Appl Genet* **85**, 697-701.

Tanksley, S. D., 1993. Mapping polygenes. *Ann Rev Genet.* **27**, 205-233.

Tautz, D., 1989. Hypervariability of simple sequences as a genetic source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res* **51**, 6463-6471.

- Temnykh, S., W. D. Park, N. Ayres, S. Cartinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y. G. Cho, T. Ishii, dan S. R. McCouch, 2000. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* **100**, 697-712.
- Thomas, C. M., Vos, P., Zabeau, M., Jones, D. A., Norcott, K. A., Chadwick, B. P., dan Jones, J. D. G., 1995. Identification of amplified restriction fragment polymorphism (AFLP) markers highly linked to the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum*. *Plant J* **8**, 785-794.
- Udupa, S. M., L. D. Robertson, F. Weigand, M. Baum, dan G. Kahl, 1999. Allelic variation at (TAA)_n microsatellite loci in a world collection of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm. *Mol Gen Genet* **261**, 354-363.
- Van Eck, H. J., Vandervoort, J. R., Draaijstra, J., Vanzandvoort, P., Vanenckevort, E., Segers, B., Peleman, J., Jacobsen, E., Helder, J., dan bakker, J., 1995. The inheritance and chromosomal localization of AFLP markers in a non-inbred potato offspring. *Mol Breed* **1**, 397-410.
- Virk, P. S., Newbury, H. J., Jackson, M. T., dan Ford-Lloyd, B.V., 1995. The identification of duplicate accessions within a rice germplasm collection using RAPD analysis. *Theor Appl Genet* **90**, 1049-1055.

- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee T, Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., dan Zabeau, M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* **23**, 4407-4414.
- Wachira, F. N., Waugh, R., Hackett, C. A., dan Powell, W., 1995. Detection of genetic diversity in tea (*Camellia sinensis*) using RAPD markers. *Genome* **38**, 201-210.
- Wang, G.L., D.J. Mackill, J.M. Bonman, S.R. McCouch, M.C. Champoux, dan R.J. Nelson, 1994. RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistance rice cultivar. *Genetics* **136**, 1421-1434.
- Wang, X., 1993. Origin, evolution and classification of the cultivated rice in China. In: C. Ying (ed.), *Rice Germplasm Resources in China*. Agriculture Science-Technology Publishing House of China, Beijing, 1-6. (In Chinese)
- Weir, B. S., 1990. Sampling Properties of Gene Diversity. Dlm : Brown, H. D. A., Clegg, M. T., Kahler, A. L. dan Weir, B. S. (pnyt), *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetics Resource*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, California. m.s.23-43.
- Welsh, J., dan McClelland, M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* **18**, 7213-7218.

- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., dan Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic marker. *Nucleic Acids Res.* **18**, 6531-6535.
- Wu, K. S., dan S. D. Tanksley, 1993. Genetic and physical mapping of telomeres and microsatellites of rice. *Plant Mol Biol* **22**, 861-872.
- Xiao, J., Grandillo, S., Ahn, S. N., McCouch S. R., dan Tanksley, S. D., 1996. Genes from wild rice improve yield. *Nature* **384**, 223-224.
- Xu, W. W., Sleper, D. A., dan Krause, G. F., 1994. Genetic diversity of tall fescue germplasm based on RFLPs. *Crop Sci* **34**, 246-252.
- Xu, Y., H. Beachell, dan S. R. McCouch, 2004. A marker based approach to broadening the genetic base of rice (*Oryza sativa L.*) in the U.S. *Crop Sci.* (in press).
- Yang, G. P., M. A. S. Maroof, C. G. Xu, Q. Zhang, dan R. M. Biyashev, 1994. Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. *Mol Gen Genet* **245**, 187-194.
- Yu, L. X., dan Nyugen, H. T., 1994. Genetic variation detected with RAPD markers among upland and lowland rice cultivars (*Oryza sativa L.*). *Theor Appl Genet* **87**, 668-672.

- Yu, Z.H., D.J. Mackill, J.M. Bonman, dan S.d. Tanksley, 1991. Tagging genes for blast resistance in rice via linkage to RFLP markers. *Theor Appl Genet* **81**, 471-476.
- Yunbi, X., 2004. Developing Marker-Assisted Selection Strategies for Breeding Hybrid Rice. *Plant Breeding Reviews* **23**, 73-174.
- Zeigler, R.S., Cuoc, L.X., Scott, R.P., Bernardo, M.A., Chen, D.H., Valent, B., dan Nelson, R.J., 1995. The relationship between lineage and virulence in *Pyricularia grisea* in the Philippines. *Phytopathology* **85**, 443-451.
- Zhang, Q.F., M.A.S. Maroof, T.Y. Lu, dan B.Z Shen., 1992. Genetic diversity and differentiation of indica and japonica rice detected by RFLP analysis. *Theor Appl Genet* **83**, 495-499.
- Zhao, K., dan S. Lin, 1989. Study on disease resistance in rice breeding V. Analysis of blast-resistance genes of rice variety Zhong-Dan No. 2. *Acta Agronomica Sinica* **15**, 267-272.
- Zheng, K., Huang, N., Bennett, J. dan Khush, S. G. 1995. PCR-based marker-assisted selection in rice breeding. *IRRI Discussion Paper Series No.12*, 6-14.

Zhu, L., Y. Chen, Z. Ling, Y. Xu, dan J. Xu, 1993. Identification of molecular markers linked to a blast resistance gene in rice. In: C.B. You, and Z.L. Chen (ed.), Agriculture Biotechnology. China Science and Technology Press, Beijing, China, 123. (In Chinese)