

KAJIAN FILOGENETIK KE ATAS GENUS *DRYNARIA* DAN
AGLAOMORPHA (POLYPODIACEAE) BERDASARKAN JUJUKAN
GEN *rbcL*

NUR HASLIZA BINTI HASSAN

DISERTASI INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI
SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH
SARJANA MUDA SAINS DAN KEPUJIAN

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
PROGRAM BIOLOGI PEMULIHARAAN
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

April 2007



UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: KAJIAN FILOGENETIK KE ATAS GENUS DYLNARIA DAN
AGLAOMERITA (POLYPODIACEAE) BERDASARKAN JUJUKAN GEN rbcL
 Ijazah: SARJANA MUDA SAINS DAN KEPUSIHAN (BIOLOGI PEMULIHARAN)

SESI PENGAJIAN: 2004

ya NUR HASLIZA BINTI HANIF

(HURUF BESAR)

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

Tesis adalah hak milik Universiti Malaysia Sabah.

Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.

**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

[Signature]

(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

mat Tetap NO. 4, JALAN PAPRIKA
 1020 BDUK 40A, 81200,

OR BAGRY, JELUTONG.

[Signature]

DR. IDRIS MOHD SAID

Nama Penyelia

Tarikh: 17.4.2007

Tarikh: 17.4.07

ATAN: * Potong yang tidak berkeraan.

** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkeraan 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 disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau 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.

17 April 2007



NUR HASLIZA HASSAN
HS2004-1876

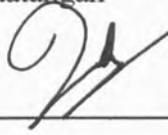


UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

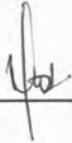
DIPERAKUKAN OLEH**1. PENYELIA**

DR IDRIS BIN MOHD SAID

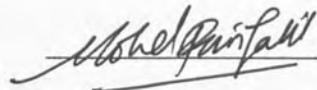
Tandatangan

**2. KO-PENYELIA BERSAMA**

DR NAZIRAH BT MUSTAFFA

**3. PEMERIKSA 1**

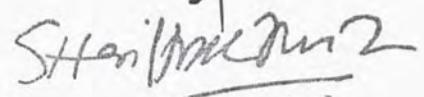
EN MOHD FAIRUS JALIL

**4. PEMERIKSA 2**

CIK AZNIZA MAHYUDIN

**4. DEKAN**

PROF. MADYA DR. SHARIFF A. KADIR S. OMANG

**UMS**
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGHARGAAN

Bersyukur ke hadrat Allah S.W.T kerana dengan limpah kurnia dan keizinanNya, projek ini dapat disiapkan sepenuhnya dalam masa yang telah ditetapkan.

Terlebih dahulu saya ingin merakamkan penghargaan ini kepada penyelia projek, Dr. Idris Mohd Said dan Dr. Nazirah binti Mustaffa selaku penyelia bersama, di atas segala bimbingan dan tunjuk ajar yang telah diberikan sepanjang tempoh kajian sehinggalah terhasilnya disertasi ini.

Penghargaan ini juga saya tujukan kepada semua pensyarah Biologi Pemuliharaan, pembantu-pembantu makmal dan juga kepada kakitangan Institut Biologi Tropika dan Pemuliharaan yang telah banyak membantu dan memberi tunjuk ajar semasa saya menjalankan kajian ini. Tidak lupa juga kepada rakan-rakan seperjuangan terutamanya Asis, Amani, Shanti, dan Nurul serta semua pelajar Biologi Pemuliharaan. Terima kasih di atas segala sokongan, tunjuk ajar dan kerjasama dari kalian semua, semoga kalian semua berjaya dalam bidang yang kalian ceburi.

Khas buat ibubapa saya, Hassan Ahmad dan Zariah Othman serta ahli keluarga tersayang, jutaan penghargaan yang tidak terhingga atas segala sokongan moral, doa dan nasihat yang telah dicurahkan selama ini. Saya amat terharu dengan kesungguhan dan nasihat tanpa putus asa yang telah diberikan kepada saya. Sesungguhnya kalian adalah kekuatan kepada saya untuk terus mengorak langkah untuk mencapai kejayaan.

Tidak lupa juga kepada mana-mana pihak yang terlibat sama ada secara langsung atau tidak langsung dalam menjayakan kajian ini. Akhir sekali, saya ingin merakamkan penghargaan kepada diri saya sendiri kerana bersikap positif dan telah bertungkus lumus untuk menyiapkan disertasi saya ini. Semoga usaha yang dilakukan selama ini mendapat balasan baik dan keberkatan daripada Allah S.W.T.

ABSTRAK

Genus *Aglaomorpha* dan *Drynaria* di dalam famili Polypodiaceae merupakan tumbuhan paku-pakis yang sangat unik dengan mempamerkan struktur pengumpul humus. Struktur pengumpul humus ini terbentuk dengan kehadiran daun sarang dan daun dedaun (dimorfik secara luaran) seperti yang terdapat pada genus *Drynaria* atau terbentuk daripada daun itu sendiri seperti yang ditunjukkan oleh tumbuhan paku-pakis di dalam genus *Aglaomorpha* (dimorfik secara dalaman dan trimorfik secara dalaman). Terdapat 3 spesies bagi genus *Drynaria* dan 4 spesies bagi genus *Aglaomorpha* yang tumbuh di Sabah. Penggunaan gen *rbcL* di dalam kajian ini telah berjaya membentuk pokok filogenetik bagi dua genus. Dua analisis telah dijalankan iaitu analisis Maximum Parsimony dan Maximum Likelihood dan kedua-dua analisis ini telah menunjukkan keputusan yang sama dalam pengasingan kesemua spesies di dalam dua kumpulan yang utama iaitu *Drynaria* dan *Aglaomorpha*. Meskipun begitu, terdapat permasalahan dalam menentukan pokok filogenetik yang sebenar, kerana pokok filogenetik yang terhasil daripada kedua-dua analisis ini adalah berbeza dari segi kedudukan *Aglaomorpha heraclea* dan *Drynaria rigidula*. Oleh itu, kajian yang selanjutnya perlu dijalankan semula ke atas kedua-dua genus ini untuk mendapatkan suatu pokok filogenetik yang lebih baik. Dicadangkan juga penggunaan data morfologi turut digunakan untuk memantapkan lagi pokok filogenetik yang akan terhasil.

ABSTRACT

Aglaomorpha and *Drynaria* in family Polypodiaceae were one of the fern that have a unique structure which shows a humus collection structure. This humus collection structure were developed by the nest leaf and foliage leaf (dimorphic external) that show in *Drynaria* or were developed by the leaf part (dimorphic and trimorphic internal) which shows in *Aglaomorpha*. There are 3 species for *Drynaria* and 4 species in *Aglaomorpha* that grow in Sabah. By using gene rbcL in this study, it has been successful in building a phylogenetic tree for these 2 genus. Two analysis which is Maximum Parsimony and Maximum Likelihood analysis were use, and both show the same result in separating all of the species into two main groups which are *Drynaria* and *Aglaomorpha*. Despite, there have been a problem in determine the true phylogenetic tree, because of the trees that resulted from both analysis is differ in position of *Aglaomorpha heraclea* and *Drynaria rigidula*. Thus, more study should be done again on both genus to get a better tree. It also suggested that morphology data should be use for getting more robust phylogenetic tree.



KANDUNGAN

	Muka Surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI SIMBOL DAN SINGKATAN	x
SENARAI JADUAL	xii
SENARAI RAJAH	xiii
SENARAI FOTO	xiv
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Lokasi Kajian	4
1.3 Objektif Kajian	4
 BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	 6
2.1 Polypodiaceae	6
2.1.1 Taksonomi	6
2.1.2 Taburan	7
2.2.2 Morfologi	8
2.2 <i>Drynaria</i>	9
2.2.1 Taksonomi	9
2.2.2 Taburan	10
2.2.3 Morfologi	10



2.3	<i>Aglaomorpha</i>	11
2.3.1	Taksonomi	11
2.3.2	Taburan	11
2.3.2	Morfologi	12
2.4	Kajian-kajian filogenetik terdahulu	12
2.5	Kaedah molekul	16
2.5.1	Genom kloroplas	17
2.5.2	Gen ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase	18
2.5.3	Elektroforesis	20
2.5.4	Tindak-balas berantai polimerase (PCR)	21
2.5.5	Penjujukan DNA	24
2.6	Analisis Filogenetik	25
BAB 3	BAHAN DAN KAEDAH	27
3.1	Penyediaan sampel kajian <i>Drynaria</i> dan <i>Aglaomorpha</i>	27
3.1.1	Aktiviti lapangan	27
3.1.2	Pengumpulan spesimen herbarium	28
3.2	Kaedah perolehan data molekul	29
3.2.1	Pengasingan genom DNA daripada sampel	31
3.2.2	Tindak-balas berantai polimerase (PCR)	32
3.2.3	Elektroforesis	36
3.2.4	pra-Pelabelan	38
3.2.5	Pelabelan	40
3.2.6	Kaedah alternatif	44



3.3	Analisis Filogenetik	47
3.3.1	Maximum Parsimoni	48
3.3.2	Maximum Likelihood	49
BAB 4 HASIL DAN KEPUTUSAN		50
4.1	Hasil elektroforesis daripada produk PCR	50
4.2	Jujukan nukleotida daripada kaedah penujujukan DNA	51
4.3	Analisis Filogenetik	53
4.3.1	Analisis Maximum Parsimoni	54
4.3.2	Analisis Maximum Likelihood	56
BAB 5 PERBINCANGAN		58
5.1	Analisis filogenetik	59
5.1.1	Analisis Maximum Parsimoni	59
5.1.2	Analisis Maximum Likelihood	61
5.2	Analisis Filogenetik daripada MP dan ML	62
BAB 6 KESIMPULAN		69
RUJUKAN		71
LAMPIRAN		75



SENARAI SIMBOL DAN SINGKATAN

μl	mikroliter
mM	milimolar
pmol	picomol
min	minit
g	gram
mg	miligram
V	Voltan
bp	pasangan bes (<i>base pair</i>)
$^{\circ}\text{C}$	darjah Celsius
$\%$	Peratus
\sim	Lebih kurang
X	Kali
$\&$	dan
$>$	Lebih
$<$	Kurang
A	Adenina
G	Guanina
T	Tiamina
C	Sitosina
U	Unit
F	Forward



R	Reverse
ddH ₂ O	air suling berganda (<i>double distilled water</i>)
MgCl ₂	Magnesium Klorida (<i>magnesium chloride</i>)
r.p.m	Bilangan revolusi per minit (<i>rotation per minute</i>)
DNA	Asid deoksiribonukleik
MP	Maximum Parsimony
ML	Maximum Likelihood
HS	Heuristic Search
BS	Bootstrapping
PAUP*	Phylogenetic Analysis Using Parsimony and other methods
PCR	Tindak-balas berantai polimerase (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
UV	Ultra Violet
sp.	spesies
var.	variasi
syn.	sinonim (<i>synonym</i>)



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
2.1 Senarai spesies di dalam genus <i>Drynaria</i> dan <i>Aglaomorpha</i> di Sabah	9
2.2 Ringkasan ciri-ciri morfologi di kalangan paku-pakis drynarioid	15
2.3 Ringkasan penggunaan bahan-bahan yang digunakan dalam tindak-balas berantai polimerase.	23
3.1 Bahan-bahan untuk pengasingan genom DNA daripada sampel	31
3.2 Bahan-bahan yang digunakan untuk PREMIX	33
3.3 Jujukan primer rbcL yang digunakan dalam tindak balas berantai polimerase	34
3.4 Bahan kimia yang diperlukan dalam penyediaan gel agarosa	36
3.5 Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk proses pra-pelabelan	38
3.6 Bahan-bahan yang digunakan untuk PREMIX	40
3.7 Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk purifikasi DNA	42
3.8 Jumlah isipadu bagi setiap tiub mikro	42
3.9 Primer yang digunakan untuk kaedah penjujukan DNA	47
5.1 Ringkasan ciri morfologi bagi genus <i>Drynaria</i>	64
5.2 Ringkasan ciri morfologi bagi genus <i>Aglaomorpha</i>	66



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
2.1 Ciri-ciri morfologi di kalangan kumpulan drynarioid	14
2.2 Diagram yang menunjukkan gen yang terletak pada kawasan besar salinan tunggal pada genom kloroplas	19
3.1 Carta alir bagi kaedah perolehan data molekul dan analisis data	30
3.2 Setiap sampel dibahagikan kepada enam set mengikut primer	41
4.1 Produk PCR bagi ketujuh-tujuh sampel selepas pengoptimuman dilakukan	51
4.2 <i>Chromatograms</i> bagi jujukan nukleotida sampel <i>Aglaomorpha brooksi</i> dengan menggunakan primer 1—1	52
4.3 <i>Chromatograms</i> bagi jujukan nukleotida sampel <i>Aglaomorpha speciosa</i> dengan menggunakan primer 1—1	52
4.4 <i>Chromatograms</i> bagi jujukan nukleotida sampel <i>Drymaria sparsisora</i> dengan menggunakan primer 1—1	52
4.5 <i>Chromatograms</i> bagi jujukan nukleotida sampel <i>Drymaria rigidula</i> dengan menggunakan primer 1—1	53
4.6 Penturutan nukleotida bagi semua sampel dan kumpulan luaran (<i>Sticherus hirtus</i>) sebelum dimasukkan ke program PAUP* untuk analisis pokok filogenetik	53
4.7 Pokok filogenetik bagi analisis Maximum Parsimony dengan menggunakan mod <i>Heuristic Search</i> dan <i>Bootstrap</i> dengan 500 replikasi dan hanya nilai <i>Bootstrap</i> >50% akan diambil kira untuk setiap takson.	54
4.8 Pokok filogenetik bagi analisis Maximum Likelihood dengan menggunakan mod <i>Heuristic Search</i> dan <i>Bootstrap</i> dengan 200 replikasi dan hanya nilai <i>Bootstrap</i> >50% akan diambil kira untuk semua takson.	56



SENARAI FOTO

No. Foto	Muka Surat
----------	------------

3.1 Sampel yang telah dipotong dan disimpan di dalam gel silika	28
---	----



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Kajian mengenai evolusi terhadap tumbuhan dan ciri-cirinya telah diberi penekanan oleh ahli botani termasuklah kajian mengenai evolusi paku-pakis. Paku-pakis merupakan tumbuhan vaskular yang tidak berbiji dan telah wujud daripada zaman Carboniferous kira-kira 290-360 juta tahun dahulu (Campbell & Reece, 1991). Oleh itu, paku-pakis mempunyai sejarah evolusi yang agak panjang berbanding tumbuhan vaskular yang lain dan demikian itu, hampir semuanya telah mengalami banyak perubahan maklumat filogenetik yang berguna (Hasebe *et al.*, 1994).

Pengelasan paku-pakis menyatakan ia tergolong di dalam filum Plantae dan diklasifikasikan di bawah Divisi Pteridophyta. Taburan paku-pakis adalah sangat meluas dan terdapat lebih kurang 10,000 spesies dengan 250 genera di seluruh dunia (Hasebe *et al.*, 1994). Di Malaysia sahaja terdapat 1165 spesies paku-pakis di bawah 35 genus, dengan di Semenanjung Malaysia sebanyak 647 spesies, 615 spesies di Sarawak dan 750 spesies di Sabah (Parris & Latiff, 1997).



Polypodiaceae merupakan famili paku-pakis yang memiliki diversiti yang sangat tinggi di kawasan tropika terutamanya di kawasan Asia. Paku-pakis ini hidup sebagai epifit dan terdapat di kawasan yang beraltitud tinggi. Ia merangkumi sebanyak 29 genus di seluruh Malaysia (Parris & Latiff, 1997). Dua genus iaitu *Drynaria* dan *Aglaomorpha* yang telah diklasifikasikan di dalam famili ini telah menarik minat ahli sistematik untuk mengkaji evolusinya dari segi pembentukan struktur pengumpul-humus yang telah dipamerkan oleh kedua-dua genus ini. Contohnya adalah daun sarang (nest leaf) dan daun dedaun (foliage leaf) pada genus *Drynaria* (Hovenkamp & Roos, 1998).

Drynaria dan *Aglaomorpha* telah membentuk satu klade yang jelas (Janssen & Schneider, 2005) di mana, genus *Drynaria* memiliki dua jenis fron yang berbeza iaitu; daun sarang dan daun dedaun. Daun sarang berfungsi khusus untuk mengumpul humus atau daun-daun yang jatuh untuk sumber nutrisinya, manakala bagi daun dedaun ia membentuk fron yang fertil yang menghasilkan spora. Bagi genus *Aglaomorpha*, ia hanya memiliki satu jenis fron tetapi pada satu fron ini mempunyai pelbagai fungsi. Fron di dalam genus ini terdiri daripada dua jenis iaitu dimorfik dan trimorfik (Janssen & Schneider, 2005).

Mengkaji sejarah evolusi bagi suatu organisma merupakan salah satu tujuan utama di dalam bidang sistematik selain daripada menghasilkan sistem pengelasan yang mampu membayangkan darjah keserupaan di kalangan organisma hidup (Mohamed, 1986). Oleh itu, sistematik merupakan satu kajian saintifik ke atas organisma dan filogeninya atau hubungan evolusinya (Uno *et al.*, 2001). Ia merupakan

satu proses untuk mengenal dan mengelompok pelbagai organisma yang hidup ke dalam kajian sains.

Pada mulanya kajian sistematik secara amnya dan kajian hubungan evolusi bagi suatu organisma secara khususnya adalah berlandaskan kepada maklumat yang diperolehi daripada rekod-rekod fosil, perbandingan anatomi dan morfologi bagi suatu organisma. Tetapi, kaedah ini menimbulkan permasalahan apabila diaplikasikan kepada spesies yang sangat rapat yang sukar untuk dibandingkan dari segi morfologinya.

Perkembangan dan kemajuan dalam bidang biologi molekul sejak penemuan struktur heliks ganda dua DNA setengah abad yang lalu oleh Watson dan Crick (1953) telah merevolusikan bidang sistematik biologi. Data-data molekul telah dijanakan dan digunakan dalam mengkaji filogenetik organisma. Disiplin baru yang dijelajahi ini disebutkan sebagai sistematik molekul. Sistematik molekul telah menyumbangkan kepada kefahaman dalam evolusi molekul melalui perbandingan data jujukan DNA.

Kajian filogenetik klasik yang melibatkan sekumpulan spesies/takson yang mempunyai persamaan morfologi yang tinggi akan menyebabkan ketidak-cukupan ciri morfologi dalam analisis filogenetik. Walau bagaimanapun, sumber DNA selalunya memperkenankan variasi yang mencukupi bagi spesies/takson yang mempunyai morfologi yang agak sama. Oleh itu, data DNA adalah lebih berguna jika dibanding dengan data morfologi dalam aspek ini.



Terdapat pelbagai sumber bahan genetik yang boleh digunakan di dalam analisis filogenetik iaitu; DNA nuklear, mitokondria DNA dan kloroplas DNA (Weaver, 1999). Ketiga-tiga bahan genetik ini dapat memberi maklumat mengenai sejarah evolusi bagi suatu organisma dengan melihatkan perubahan kedudukan jujukan nukleotidanya.

Kajian ini menggunakan kloroplas DNA sebagai sumber maklumat, iaitu gen *rbcL*. Gen *rbcL* hadir pada kawasan besar salinan tunggal pada DNA kloroplas mengkodkan subunit besar bagi enzim ribulose-1,5-bis-phosphate carboxylase/oxygenase (rubisco) yang berfungsi dalam proses fotosintesis dan sistem pengangkutan elektron (Soltis & Soltis, 1992).

1.2 Lokasi Kajian

Lokasi kajian ini adalah meliputi beberapa kawasan di Sabah iaitu di Taman Negara Kinabalu, sekitar Kota Kinabalu dan Taman Paku-pakis, Substesen Keningau, Banjaran Crocker untuk pengumpulan sampel DNA dan juga spesimen untuk herbarium.

1.3 Objektif Kajian

Kajian ini memfokuskan kepada kajian filogeni ke atas genus *Drynaria* dan *Aglaomorpha* (Polypodiaceae) yang terdapat di Sabah berdasarkan jujukan gen *rbcL*. Melihatkan kepada kajian yang terdahulu, tidak semua spesies yang terdapat di Sabah ini telah dikaji hubungan filogeninya, demikian itu, satu hubungan filogeni yang baru

dilakukan di mana merangkumi semua spesies dalam genus *Drynaria* dan *Aglaomorpha* di Sabah. Objektif kajian ini ialah:

1. Untuk mendapatkan jujukan nukleotida bagi setiap spesies dengan menggunakan kaedah biologi molekul.
2. Untuk membina satu hubungan filogenetik di antara dua genus ini berdasarkan kepada data molekul.



BAB 2

ULASAN LITERATUR

2.1 Polypodiaceae

Polypodiaceae merupakan salah satu famili yang dikelaskan di bawah Divisi Pteridophyta, di mana kebanyakan paku-pakis ini menjalani kehidupan sebagai epifit. Selain daripada famili ini, Aspleniaceae dan Davalliaceae juga memiliki cara hidup yang hampir sama dengan Polypodiaceae (Parris *et al.*, 1992).

2.1.1 Taksonomi

Famili Polypodiaceae ini pertama kali diperkenalkan oleh Berchtold dan Presl (1820), penamaan ini juga turut digunakan oleh Ching (1940), Copeland (1947) dan Holttum (1955). Ia juga digunakan oleh Copeland di dalam Fern Fl. Philipp (1960) dan juga Hovenkamp *et al.* (1998).

Ching (1940) telah menaikkan taraf ke famili bagi *Platycerium* sebagai Platycariaceae sebagai nama famili dan *Drynaria* sebagai Drynariaceae tetapi tidak diterima dan kekal sebagai tip genus *Platycerium* dan *Drynaria*.

2.1.2 Taburan

Taburan paku-pakis di bawah famili ini adalah meluas di seluruh dunia dengan mempunyai diversiti yang tinggi di kawasan tropika, terutamanya di Asia (Hovenkamp *et al.*, 1998). Di Malaysia, sebanyak 1165 spesies dengan 21 genus telah direkodkan oleh Parris *et al.* (1992) iaitu meliputi kawasan Semenanjung Malaysia, Sabah dan Sarawak.

Di Semenanjung Malaysia, sebanyak 18 genus daripada 21 genus telah direkodkan (Parris *et al.*, 1992). 3 genus yang tidak direkodkan iaitu genus *Holcosorus*, *Polypodiopteris* dan *Polypodium*. Takson bagi tiga genus ini telah dipindahkan ke genus yang lain atau nama telah ditukar sebagai contoh nama *Polypodium* telah ditukar menjadi *Goniophlebium* (Said, 2005).

Di Sarawak pula, sebanyak 19 genus daripada 21 genus telah direkodkan dimana genus *Christopteris* dan *Leptochilus* tidak direkodkan di Sarawak (Parris *et al.*, 1992). Tinjauan di Bario, Sarawak, telah mendapati famili ini merupakan famili yang mudah didapati (Jaman *et al.*, 1999).

Di Sabah, sebanyak 19 genus daripada 21 genus telah direkodkan dimana genus *Christopteris* dan *Polypodium* tidak direkodkan di Sabah (Parris *et al.*, 1992). Satu kajian terkini telah mendapati famili Polypodiaceae juga merupakan famili yang terbesar dengan 82 spesies dikalangan paku-pakis yang terdapat di Sabah (Said, 2005).



2.1.3 Morfologi

Kehidupan sebagai paku-paku epifit telah menjadikan paku-pakis dalam famili ini menggunakan pokok-pokok yang besar sebagai tempat tumpangan dan mendapatkan keperluan nutrisi daripada air hujan dan humus yang dikumpul daripada sekelilingnya. Ia bukanlah tumbuhan parasit tetapi hanya berpaut di permukaan kulit kayu pohon sahaja dan dari sana ia mengumpulkan segala air dan makanan yang dikehendakinya (Bidin, 1986).

Paku-pakis daripada famili ini memiliki rizom yang bersisik dan menjalar. Fronnya adalah berhubung dan apabila sudah tua, ia akan jatuh. Fronnya adalah kukuh, bentuknya tidak kompleks atau hanya mempunyai satu pinat dan cukup tebal untuk menyimpan air dan untuk mengelakkan daripada kehilangan air. Spesies-spesies tertentu paku-pakis di bawah famili ini mempunyai cara-cara tertentu untuk mendapatkan humus, seperti pembentukan bakul yang besar dengan cara susunan daun-daunnya yang dibuat sedemikian rupa seperti yang ditunjukkan oleh *Aglaomorpha* sp. dan *Drynaria* sp.

Dua genus di dalam famili Polypodiaceae iaitu; *Drynaria* dan *Aglaomorpha* ini mempamerkan struktur pengumpul-humus yang unik sebagai adaptasinya kepada kehidupan epifit. Pembentukan struktur pengumpul-humus telah menarik minat ahli sistematik untuk mengkaji sejarah evolusi pembentukan struktur ini. Di Sabah, telah direkodkan bahawa genus *Drynaria* memiliki 3 spesies, manakala genus *Aglaomorpha* memiliki 4 spesies, senarai spesies adalah seperti di dalam Jadual 2.1.



Jadual 2.1 Senarai spesies yang terdapat di dalam setiap genus *Drynaria* dan *Aglaomorpha* di Sabah.

Genus	Polypodiaceae
<i>Drynaria</i>	<i>Drynaria quercifolia</i> (L.) J. Sm.
	<i>Drynaria rigidula</i> (Sw.) Bedd.
	<i>Drynaria sparsisora</i> (Desv.) T. Moore
<i>Aglaomorpha</i>	<i>Aglaomorpha brooksii</i> Copel.
	<i>Aglaomorpha drynarioides</i> (Hook.) Roos, syn. <i>Merinthosorus drynarioides</i> (Hook.) Copel.
	<i>Aglaomorpha heraclea</i> (Kunze) Copel., syn. <i>Drynariopsis heraclea</i> (Kunze) Ching.
	<i>Aglaomorpha speciosa</i> (Blume) Roos, syn. <i>Photinopteris speciosa</i> (Blume) C. Presl

(Sumber : Said, 2005)

2.2 *Drynaria* J. Smith

2.2.1 Taksonomi

Pertama kalinya, genus *Drynaria* ini merupakan subgenus di bawah *Polypodium* oleh Bory (1826) dan kemudian Smith (1841) menaikkan takson ini daripada subgenus kepada genus *Drynaria*. Nama *Drynaria* ini juga turut digunakan oleh Fee (1850-1852), Copeland (1911), Ching (1940), dan Holttum (1954). Ia masih lagi digunakan oleh Copeland di dalam Fern Fl. Phillip (1960) dan juga digunakan oleh Hovenkamp *et al.* (1998).

Menurut Hovenkamp & Roos (1998) *Aglaomorpha* dan *Drynaria* membentuk satu kumpulan yang jelas, di bawah sub-famili *Drynarioideae* sepertimana yang telah



RUJUKAN

- Attwood, T. K. dan Parry-Smith, D. J., 1999. *Introduction to Bioinformatics*. Pearson Educational Ltd., England.
- Bidin, A. A., 1986. *Paku-pakis Di Sekeliling Kita*. Dewan Bahasa & Pustaka, Kuala Lumpur.
- Campbell, N. A., dan Reece, J. B., 2002. *Biology*. Ed. ke-6. Pearson Education, Inc., San Francisco.
- Duttweiler, H. M. dan Gross, D. S., 1998. 5'-Degenerate 3'-Dideoxy-Terminated Competitors of PCR Primers Increase Specificity of Amplification. *BioTechniques*, **24**, 445-450.
- Hall, B. G., 2001. *Phylogenetic Trees Made Easy*. Sinauer Assoc., Sunderland.
- Hartwell, L. H., Hood, L., Goldberg, M. L., Reynolds, A. E., Silver, L. M. dan Veres, R. C., 2004. *Genetics: From Genes to Genomes*. Ed. ke-2. The McGraw-Hill Companies, Inc., New York.
- Hasebe, M., Omori, T., Nakazawa, M., Sano, T., Kato, M., dan Iwatsuki, K., 1994. rbcL gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 5730-5734.
- Holttum, R.E., 1968. *Flora of Malaya: Fern of Malaya*. Ed. ke-2. Government Printing Office, Singapore.
- Hovenkamp, P.H., Bosman, M.T.M., Hennipman, E., Nooteboom, H.P., Rödl-Linder, dan Roos, M.C., 1998. Dlm: Kalkman, C. Kirkup, D. W., Nooteboom, H.P., Saw, L.G., Stevens, P.F., dan de Wilde, W.J.J.O (pnyt.) *Flora Malesiana: Series II-Ferns and Fern allies*. Rijksherbarium/Hortus Botanicus, Leiden, The Netherlands.



- Jaman, R., Mat Salleh, K., dan Latiff, A., 1999. Provisional Account and Checklist of Ferns and Fern-Allies in Bario, Kelabit Highlands, Sarawak, *ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation (ARBEC)*.
- Jansen, R. K., Wee, J. L. dan Millie, D., 1992. Comparative Utility of Chloroplasts DNA Restriction Site and DNA Sequence Data for Phylogenetic Studies in Plants. Dlm: Soltis, E. D., Soltis, S. P., dan Doyle, J. J. (pnyt.) *Molecular Systematics of Plants II: DNA Sequencing*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 87-98.
- Janssen, T. dan Schneider H., 2005. Exploring the evolution of humus collecting leaves in drynarioid ferns (Polypodiaceae, Polypodiidae) based on phylogenetic evidence, *Plant Systematics and Evolution*, **252**, 175-197.
- Korall, P. dan P. Kenrick, 2002. Phylogenetic relationships in Selaginellaceae based on rbcL sequences. *American Journal of Botany*, **89**, 506–517.
- Krane, D.E., dan Raymer, M.L., 2003. *Fundamental Concepts of Bioinformatics*. Pearson Education, Inc., San Francisco.
- Leonard, J. T., Grace1, M. B., Buzard, G. S., Mullen, M. J., dan Barbagallo, C. B., 1998. Preparation of PCR Products for DNA Sequencing. *BioTechniques*, **24** 314-317.
- Little, D. P. dan Barrington, D. S., 2003. Major evolutionary events in the origin and diversification of the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae). *American Journal of Botany*, **90** (3), 508-514.
- Mohamed, A. L. (ptrj.), 1986. *Tatanama Biologi*. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur.
- Nei, M. dan Kumar, S., 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford Univeristy Press, Inc., Avenue, New York.



- Page, R. D. M. dan Holmer, E. C., 1998. *Molecular Evolution, A Phylogenetic Approach*, Blackwell Science, Ltd., United Kingdom.
- Parris, B. S., Beaman, J. H., dan Beaman, R. S., 1992. *The Plants of Mount Kinabalu: Ferns and Fern Allies*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Parris, B. S., dan Latiff, A., 1997. Towards a Pteridophyte Flora of Malaysia: A Provisional Checklist of Taxa. *Malayan Nature Journal* **50**, 235-280.
- Piggot, A. dan Piggot J., 1979. *Heinemann Guide to Common Epiphytic Ferns of Malaysia and Singapore*. Heinemann Educational Books (Asia) Ltd., Singapore.
- Piggot, A.G., 1996. *Ferns of Malaysia in Colour*. Tropical Press Sdn. Bhd, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Robert B. Macgregor dan Gregory M.K. Poon, 2003. The DNA double helix fifty years on. *Computational Biology and Chemistry*, **27**, 461–467.
- Roos, M. C., 1985. Phylogenetic systematics of the Drynarioideae (Polypodiaceae). *Verh. Kon. Ned. Akad. Wetensch., Afd. Natuurk., Tweede Sect.*, **85**, 1-318.
- Said, I. M., 2005. A preliminar checklist of the pteridophytes of Sabah. *Journal of Tropical Biology and Conservation*, **1**, 47-69.
- Said, I. M., 2006. *Molecular Systematics Training Course: Manual for DNA Extraction, Sequencing and Analysis*. Universiti Malaysia Sabah, Kota Kinabalu (Tidak diterbitkan).
- So, M. L., 1994. *Common Ferns of the Philippines*. College of Arts and Sciences, Trinity College, Quezon City, Philippines.



- Soltis, E. D. dan Soltis, S. P., 1992. Choosing an Approach and an Appropriate Gene for Phylogenetic Analysis. Dlm: Soltis, E. D., Soltis, S. P., dan Doyle, J. J. (pnyt.) *Molecular Systematics of Plants II: DNA Sequencing*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 3-11.
- Swofford, D. L., Olsen G. J., Waddell, P. J., dan Hillis, D. M., 1996. Phylogenetic Inference. Dlm: Hillis D. M., Moritz, C., dan Mable, B. K. (pnyt.) *Molecular Systematic*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, United States of America, 407-514.
- Sytsma, K. J. dan Hahn, W. J., 2001. Molecular Systematics:1997-1999. Dlm: Bechum, K.E., Darmstadt, U.L., Mainz, J.W.K., dan Bielefeld, W.B. (pnyt.) *Progress in Botany; Genetics, Physiology, Systematics, Ecology, Vol. 62*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 307-321.
- Uno, G., Storey, R., dan Moore, R., 2001. *Principles of Botany*. The McGraw-Hill Companies, Inc., United States of America.
- Weaver, R. F., 1999. *Molecular Biology*. The McGraw-Hill Companies, Inc., United States of America.
- Wolfe, A. D. dan Liston, A., 1992. Contribuitons od PCR-Based Methods to Plant Systematics and Evolutionary Biology. Dlm: Soltis, E. D., Soltis, S. P., dan Doyle, J. J. (pnyt.) *Molecular Systematics of Plants II: DNA Sequencing*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 44-50.
- Yatskievych, G., Steint, D. B. dan Gastony, G. J., 1987. Chloroplast DNA evolution and systematics of Phanerophlebia (Dryopteridaceae) and related fern genera. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 2589-2593.

