

Penilaian awalan prestasi varieti padi tradisional terhadap persekitaran banjir

(Preliminary study on traditional rice variety performance in submergence environment)

Muhammad Shafie Md Sah, Noraziyah Abd. Aziz Samsudin, Ahmad Hafiz Baharom, Mohd Ikmal Asmuni, Mohamad Zulkiffely A Rahman dan Mohd Azhar Hassan

Pengenalan

Perubahan iklim telah dikenal pasti sebagai penyebab utama kemerosotan produktiviti hasil pertanian. Salah satunya adalah fenomena banjir kilat yang telah mengakibatkan kehilangan hasil yang tinggi dari kawasan jelapang padi negara. Saban tahun fenomena ini telah menyebabkan petani kerugian berjuta-juta ringgit dan kehilangan mata pencarian apabila padi yang baru ditanam tenggelam dalam banjir sekurang-kurangnya seminggu, yang menyebabkan banyak tanaman padi musnah. Pelbagai langkah perlu difikirkan untuk memastikan petani tidak mengalami kerugian yang sama berulang setiap tahun dan mengancam jaminan keselamatan makanan negara. Menaik taraf sistem pengairan serta perparitan dan penggunaan varieti padi yang rentan banjir merupakan sebahagian langkah ke arah penyelesaian perkara ini.

Pengenalan kepada penghasilan varieti toleran banjir bermula dengan pemilihan dan pengumpulan varieti tradisional semenjak tahun 1950-an. Antaranya ialah varieti FR13A dan FR43B iaitu induk padi toleran banjir moden. Varieti ini ditemui di India (Orissa, Kurkaruppan dan Goda Henati) dan Sri Lanka (Thavalu). Varieti-varieti ini terkenal di kalangan petani tempatan kerana menunjukkan 100% keupayaan untuk hidup walaupun selepas 10 hari tenggelam dalam banjir. Varieti ini telah menunjukkan ciri pemanjangan daun yang perlahan, kadar kemandirian yang tinggi dan kadar pemanjangan koleoptil yang cepat. Walau bagaimanapun, varieti ini tidak mempunyai ciri ekonomi untuk pengeluaran berskala besar seperti hasil tuaian yang rendah, sensitif cahaya dan menghasilkan benih yang kurang bermutu. Untuk itu, *International Rice Research Institute* (IRRI) telah menjalankan pencirian dan penilaian varieti-varieti tradisional sebelum penghasilan varieti mega rintang banjir sekitar tahun 2010 melalui kaedah pembaikbakaan seperti varieti Swarna *Sub1*, BR11 *Sub1* dan IR64 *Sub1* untuk ditanam oleh petani di India, Bangladesh, Filipina dan Indonesia.

Kajian yang dijalankan oleh penyelidik IRRI mendapati kandungan genetik yang mengawal ciri-ciri kerintang terhadap banjir ialah 70% dikawal oleh lokus *quantitative trait loci* (QTL) *SUBMERGENCE1* atau lebih dikenali sebagai gen *Sub1* yang dipetakan pada kromosom 9. Terdapat juga beberapa lokus

QTL yang dikenal pasti menyumbang kurang daripada 30% kepada variasi fenotip. Pencapjarian dan pemetaan molekul yang dijalankan dengan lebih jitu telah berjaya memetakan beberapa lagi lokus QTL yang dinamakan *Sub1A*, *Sub1B* dan *Sub1C*. Lokus-lokus *Sub1* ini telah dijadikan penanda molekul dalam penentuan kehadiran gen *Sub1* pada varieti-varieti padi tradisional yang ingin diuji.

Penyaringan padi tradisional

Penilaian fenotipik

Padi tradisional yang berpotensi boleh dikenal pasti dengan menjalankan penilaian fenotipik dan pengentipian DNA. Kajian penilaian fenotipik telah dijalankan terhadap 82 aksesi padi tradisional tempatan yang diperolehi dari Bank Gen Padi MARDI (*Jadual 1*) telah dijalankan dengan perbandingan kepada varieti toleran banjir varieti IR64 *Sub1* yang diperolehi dari IRRI. MR219 telah dijadikan sebagai varieti kawalan rentan banjir manakala varieti IR64 *Sub1* digunakan sebagai varieti kawalan rintang banjir. Ciri-ciri berkaitan keupayaan adaptasi daripada tekanan banjir oleh padi telah dicerap seperti pemanjangan koleoptil, kadar kemandirian dan pemanjangan daun sepanjang tempoh rendaman dalam air banjir. Setelah banjir surut, pokok akan melalui fasa pemulihan dan penilaian kualitatif keadaan fizikal pokok dalam fasa tersebut diberi berdasarkan skor toleran banjir.

Panjang koleoptil (PK) diukur setelah enam hari genotip padi disemai di dalam piring petri. Kadar kemandirian (KK) pula diukur dengan mengira peratusan jumlah pokok yang hidup selepas fasa aruhan banjir dilakukan. Skor toleran banjir (SB) diberikan untuk menilai secara kualitatif kesan kerosakan dan penyembuhan pokok terhadap aruhan banjir. Skor yang diberikan adalah seperti yang berikut: satu untuk daun hijau gelap, tegak, pemanjangan minimum; tiga untuk daun hijau tegak, pemanjangan sedikit; lima untuk daun hijau pucat, terkulai, pemanjangan sederhana; tujuh untuk daun hijau pucat panjang, terkulai, sedikit individu hidup dan sembilan untuk daun putih pucat, panjang, mati. Pemanjangan daun (PD) juga direkodkan berdasarkan panjang daun sebelum dan selepas aruhan diberi. Untuk mengenal pasti varieti tradisional yang mempunyai ciri-ciri ketahanan banjir, penyaringan telah dijalankan terhadap 82 aksesi. Pemanjangan daun semasa tempoh terendam di dalam air banjir juga direkodkan. Ujian simulasi banjir dijalankan dengan menenggelamkan keseluruhan anak pokok berusia 14 hari di dalam tangki polimer setinggi dua kaki. Selepas 14 hari terendam, air dikeluarkan dan anak pokok dibiarkan melalui fasa pemulihan. Pemerhatian terhadap jumlah anak pokok yang hidup, pemanjangan daun serta kualiti fizikal pokok direkodkan selepas enam hari.

Jadual 1. Senarai genotip padi tradisional berasal dari Semenanjung Malaysia yang digunakan dalam kajian ini

No.	Nama varieti	No.	Nama varieti
1.	Lekon	43.	Pahit
2.	Manik 144	44.	Arohan
3.	Campa	45.	Mayang kelubi
4.	Kao Pom	46.	Mayang Ambur
5.	Jangguk Gugus	47.	Sat gantung alu
6.	Merah Wangi (1)	48.	Ketumbar
7.	Pulut Pujoh (1)	49.	Padi kutip
8.	Pulut Tupai (1)	50.	Tunjang
9.	Rambut Hitam	51.	Intan sayang
10.	Bongkok	52.	Lumut
11.	Cepa	53.	Padi tongkat
12.	Chali	54.	Botol
13.	China	55.	Mayang kuning
14.	Hitam	56.	Orang betina
15.	Huma Lenggong 2	57.	Sagumpal
16.	Huma Kuning Lenggong	58.	Kedah
17.	Langsat	59.	Pak Ahmad
18.	Lenggong	60.	Kadaria
19.	Wangi Puteh	61.	Pak kedek
20.	Pulut Book Cheding	62.	Bujang comel
21.	Pulut Buyang	63.	Cekor
22.	Pulut Hitam Beras Hitam	64.	Intan terpilih
23.	Pulut Merah	65.	Anak Kerengga
24.	Pulut Hitam	66.	Darah selimut
25.	Berteh	67.	Ketitir
26.	Pulut Kurau	68.	Melor
27.	Gerit	69.	Tangkai mas
28.	Gerik	70.	Kutu chempaka
29.	Bunga Tebu 1	71.	Rambai
30.	Ulat Kuning	72.	Jawi kuning
31.	Buih	73.	Mayang pasir
32.	Jambok	74.	Padi bunga tebu
33.	Padi Gunong	75.	Rambutan
34.	Langkap	76.	Krian B
35.	Kuku Balam I	77.	Lebar
36.	Bidor	78.	Coreng
37.	Kepak	79.	Pulut pahang sekayu
38.	Buah Rotan	80.	Pulut Butir Nangka
39.	Putih	81.	MR284
40.	Jabat	82.	MR219
41.	Mayang che mah		
42.	Anak naga		

Pengenotipan DNA

Pemencilan DNA dilakukan untuk menganalisis kehadiran QTL melalui cebisan DNA yang dihasilkan oleh pencetus-pencetus polimorfik yang terletak berhampiran dengan kedudukan gen *Sub1* pada kromosom 9. Kaedah ini digunakan untuk mengenal pasti sekiranya genotip padi tradisional yang toleran banjir mempunyai QTL yang sama dengan varieti kawalan (IR64 *Sub1*). Kaedah saringan penanda polimorfik ulangan jujukan ringkas (SSR) untuk QTL berkaitan toleran banjir digunakan. DNA diekstrak menggunakan kaedah *cetyltrimethyl ammonium bromide* (CTAB). Tindak balas berantai polymerase (PCR) juga telah dijalankan untuk memperkaya bilangan jujukan polimorfik SSR. Profil kitaran PCR yang diguna pakai semasa kajian ini adalah seperti dalam *Jadual 2*.

Jadual 2. Profil kitaran PC

Fasa	Suhu (°C)	Tempoh (min: saat)	Kitar
Penyahhasilan awal	94	04:00	} 30x
Penyahhasilan	94	00:45	
Penyepuhan	55/60	00:45	
Pemanjangan	72	01:00	
Pemanjangan akhir	72	05:00	
Penyimpanan	4	∞	

Penanda SSR yang dipilih untuk mengenal pasti lokus *Sub1* adalah berdasarkan kajian yang pernah dijalankan terdahulu dan dirujuk daripada pangkalan data (www.gramene.org) untuk mengenal pasti motif ulangan, kedudukan pada kromosom 9 dan anggaran saiz produk PCR bagi setiap penanda (*Jadual 3*).

Penskoran adalah berdasarkan perbandingan antara genotip varieti toleran banjir (IR64 *Sub1*) dengan genotip padi-padi yang disaring dan mempunyai kadar kemandirian yang tinggi. Nombor/huruf yang sama diberikan kepada genotip yang mempunyai skor yang sama dengan genotip IR64 *Sub1*.

Prestasi padi tradisional

Koleoptil merupakan struktur penting yang menentukan kualiti benih dan produktiviti genotip. Kajian terdahulu mendapati pemanjangan koleoptil mempunyai kaitan dengan kadar kemandirian (KK) genotip padi. Walau bagaimanapun, kesan ini lebih jelas sekiranya benih diuji dalam keadaan banjir sebenar. Koleoptil akan tumbuh dan memanjang dengan segera untuk ke permukaan tanah sebelum daun sebenar mengembang sebagai mekanisme melepaskan diri daripada tekanan banjir

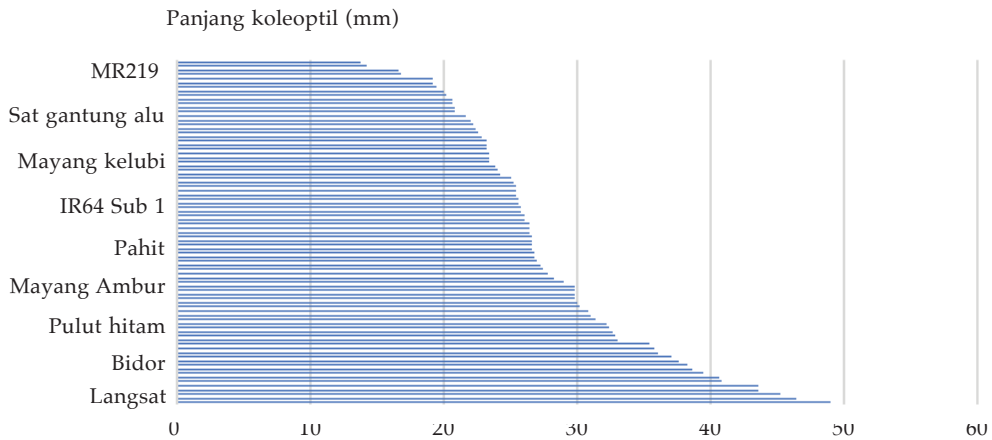
Jadual 3. Senarai penanda SSR berkait rapat dengan *Sub1* yang digunakan

Bil.	Penanda	Jujukan	Saiz produk PCR (bp)	Suhu penyepuhan (°C)
1.	SC3	GCTAGTGCAGGGTTGACACA CTCTGGCCGTTTCATGGTAT	217	55
2.	ART5	CAGGGAAAGAGATGGTGGGA TTGGCCCTAGGTTGTTTCAG	124	55
3.	RM23,662	GAGAGGACGATGGCACTATTGG CGAGGAACTTGATTTCGCATGG	149	60
4.	RM23,877	TGCCACATGTTGAGAGTGATGC TACGCAAGCCATGACAATTCG	327	60
5.	RM219	CGTCGGATGATGTAAGCCT CATATCGGCATTTCGCCTG	202	55
6.	RM285	CTGTGGGCCCAATATGTCAC GGCGGTGACATGGAGAAAG	205	55
7.	RM444	GCTCCACCTGCTTAAGCATC TGAAGACCATGTTCTGCAGG	162	55
8.	RM2,3805	GAGACAGATGTGTACGGTTTGGTG TTGACAAGGAAGGAGAAG	230 – 240	55

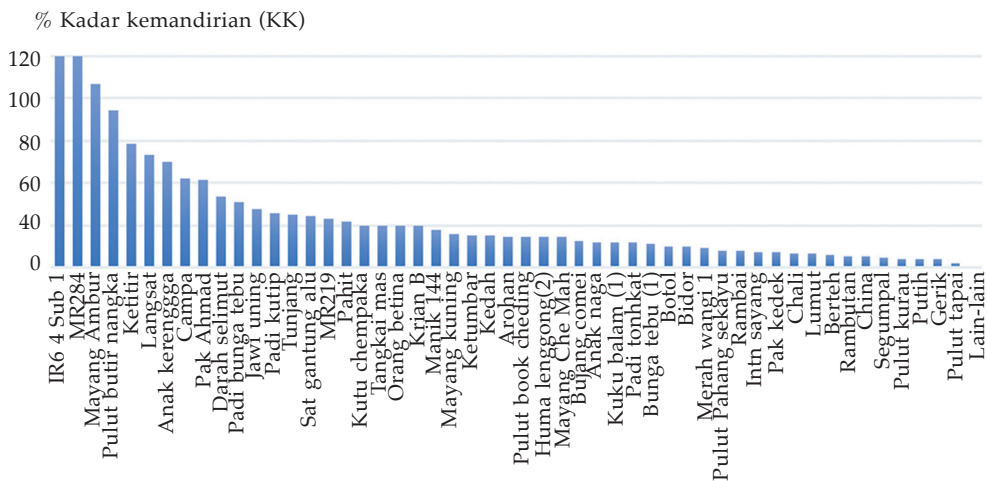
untuk memulakan proses fotosintesis dan penghasilan makanan untuk bekalan tisu di dalam air. Pemerhatian yang dijalankan terhadap PK dalam tempoh enam hari selepas semaian berada pada julat 13.80 – 49.00 mm dengan min keseluruhan ialah 27.86 mm (*Rajah 1*). Nilai PK tertinggi yang direkodkan ialah 49.00 mm (Langsat) manakala nilai PK paling rendah ialah 13.8 mm (Lebar). Bagi IR64 *Sub1* pula, PK yang direkodkan ialah 25.8 mm, iaitu berada di kelompok pertengahan menghampiri nilai min.

Pemerhatian yang dijalankan mendapati genotip yang mempunyai kadar kemandirian melebihi 40% iaitu MR284, Mayang ambur, Pulut butir nangka, Ketitir, Langsat, Anak kerengga, Campa dan Pak Ahmad menunjukkan ciri fizikal kerentanan terhadap banjir yang lebih baik dan mencapai skor (3), (5) atau (7) manakala genotip yang lain hanya mencapai skor (7) dan (9) sahaja dengan kadar KK 0 – 35%. Justeru, hanya lapan genotip ini sahaja yang akan digunakan untuk pengenotipan DNA (*Rajah 2*).

Pemerhatian yang dijalankan terhadap pemanjangan daun mendapati kelapan-lapan genotip ini mempunyai julat pemanjangan daun antara 19.4 – 49.0 cm manakala genotip IR64 *Sub1* yang hanya mencatat 28.80 cm. Kajian terdahulu mendapati hampir kesemua megavarieti yang dihasilkan mempunyai kadar pemanjangan yang rendah. Ini kerana pokok hanya menggunakan tenaga pada kadar yang sangat minimum seolah-olah berada dalam keadaan dorman dan menyimpan tenaga



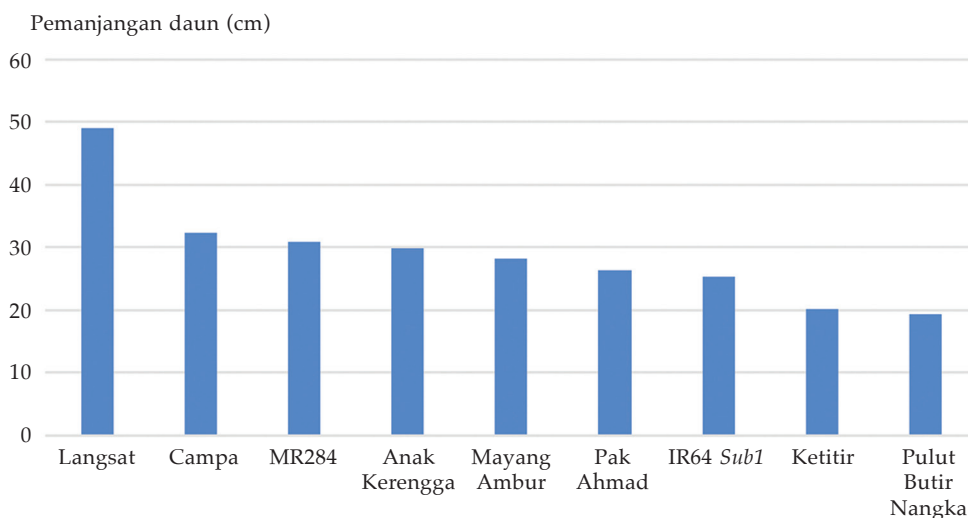
Rajah 1. Panjang koleoptil yang direkodkan untuk kesemua 82 genotip padi



Rajah 2. Kadar kemandirian (KK) bagi panjang koleoptil yang direkodkan untuk kesemua 82 genotip padi

untuk pertumbuhan ketika fasa pemulihan. Pemerhatian lanjut yang dijalankan ke atas pemanjangan daun adalah seperti dalam Rajah 3.

Sebanyak lapan penanda SSR digunakan dalam kajian ini untuk mengesahkan kehadiran gen *Sub1*. Kesemua penanda-penanda ini terletak pada kromosom 9 dengan penanda puncak pada lokasi gen *Sub1* ialah SC3 dan ART5. Semua pencetus penanda SSR yang digunakan dalam kajian ini bersifat polimorfik kerana dapat mengesan cebisan DNA dengan pelbagai saiz pada lokus-lokus tersebut. Hasil skor keseluruhan (*Jadual 4*) yang dijalankan menunjukkan bahawa genotip Langsung mempunyai paling banyak persamaan dengan genotip IR64 *Sub1* iaitu pada penanda RM285, RM219 dan RM444. MR284 dan Anak Kerengga pula masing-masing mempunyai persamaan pada dua penanda iaitu ART5 dan RM285 (bagi MR284) dan RM285 dan RM23,805



Rajah 3. PD yang direkodkan bagi lapan genotip terpilih berbanding dengan IR64 Sub1

Jadual 4. Jadual skor DNA bagi produk PCR padi tradisional dengan pencetus penanda SSR menggunakan kaedah PAGE dengan perbandingan varieti toleran banjir IR64 Sub

Pencetus	Genotip								
	IR64 Sub1	MR284	Ketitir	Pak Ahmad	Mayang Ambur	Pulut Butir Nangka	Anak Kerengga	Campa	Langsat
SC3	AA	BB	BB	CC	BB	CC	BB	BB	BB
ART5	AA	AA	BB	CC	BB	CC	DD	EE	DD
RM285	AA	AA	BB	CC	BB	AA	AA	DD	AA
RM23662	AA	BB	CC	BB	CC	DD	CC	EE	EE
RM23805	AA	BB	CC	U	DD	EE	AA	EE	FF
RM219	AA	BB	CC	U	DD	EE	FF	GG	AA
RM444	AA	BB	CC	U	CC	CC	CC	DD	AA
RM23877	AA	BB	U	CC	AA	DD	EE	AA	FF

*U = jalur DNA tidak dapat dikesan

(bagi Anak Kerengga). Mayang Ambur, Pulut Butir Nangka dan Campa pula masing-masing merekodkan persamaan hanya pada satu penanda SSR iaitu RM23877 (Mayang Ambur dan Campa) dan RM285 bagi Pulut Butir Nangka. Bagi genotip Ketitir dan Pak Ahmad pula, tiada penanda SSR yang digunakan dapat mengesan persamaan dengan genotip IR64 Sub1.

Kesimpulan

Penyaringan dan penilaian yang dijalankan ke atas varieti padi tradisional mendapati bahawa ia berpotensi untuk digunakan sebagai sumber genetik untuk penghasilan varieti-varieti baharu padi yang rentan kepada banjir. Namun begitu, beberapa lagi perimeter boleh ditambah untuk mendapat keputusan yang

lebih jitu. Hasil kajian ini mendapati sebanyak lapan aksesori iaitu MR284, Mayang ambur, Pulut butir nangka, Ketitir, Langsung, Anak Kerengga, Campa dan Pak Ahmad berpotensi untuk digunakan dalam kajian selanjutnya dalam mengenal pasti potensi varieti tradisional yang dianggarkan berjumlah 18,000 dalam koleksi Bank Gen Padi MARDI.

Bibliografi

- Angaji, S.A., Septiningsih, E.M., Mackill, D.J. dan Ismail, A.M. (2010). QTLs associated with tolerance of flooding during germination in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 172(2): 159 – 168
- Bailey-Serres, J., Fukao, T., Ronald, P., Ismail, A., Heuer, S. dan Mackill, D. (2010). Submergence tolerant rice: SUB1's journey from landrace to modern cultivar. *Rice* 3(2–3): 138 – 147
- Mojulat, W.C., Yusop, R., Ismail, R., Shukor Juraimi, A., Harun, A.R., Ahmed, F. dan Abro, F. (2017). Analysis of simple sequence repeat markers linked to submergence tolerance on newly developed rice lines derived from MR263 × Swarna-Sub1 *Sains Malaysiana* 46(4): 521 – 528
- Muhammad Shafie, M.S. (2018). Penilaian aksesori padi tradisional di Malaysia dalam tekanan banjir. Tesis Ijazah Sarjana Sains, Universiti Kebangsaan Malaysia
- Septiningsih, E.M., Pamplona, A.M., Sanchez, D.L., Neeraja, C.N., Vergara, G.V., Heuer, S. dan Ismail, A.M. (2009). Development of submergence-tolerant rice cultivars: The Sub1 locus and beyond. *Annals of Botany* 103(2): 151 – 160

Ringkasan

Sejak akhir-akhir ini, banjir menjadi salah satu tekanan abiotik utama yang mengancam kawasan penanaman padi di Malaysia. Padi memerlukan mekanisme pertahanan dan pemulihan yang mempunyai ciri-ciri toleran kepada banjir seperti pertumbuhan koleoptil (PK), kadar kemandirian hidup (KK), kadar pemanjangan daun (PD) dan ciri fizikal daun secara visual. Locus ciri kuantitatif (QTL) *Sub1* pada kromosom 9 dikenal pasti berperanan dalam mengawal ciri toleran banjir. Dalam kajian ini, perbandingan terhadap 80 genotip padi tradisional dan dua varieti moden (MR219 dan MR284) dengan varieti toleran banjir IR64 *Sub1* telah dijalankan bagi mengenal pasti ciri-ciri tersebut. Genotip yang dikenal pasti mempunyai ciri-ciri toleran banjir turut disaring bagi pengesanan locus QTL *Sub1* menggunakan lapan pencetus ulangan jujukan ringkas (SSR). Berdasarkan pemerhatian, lapan aksesori genotip padi tradisional iaitu MR284, Mayang Ambur, Pulut Butir Nangka, Ketitir, Langsung, Anak Kerengga, Campa dan Pak Ahmad menunjukkan ciri fenotipik toleran banjir. Walau bagaimanapun, pengentipian DNA yang dijalankan menunjukkan kesan alel berbilang dan mempunyai skor berbeza dengan genotip IR64 *Sub1*. Kajian yang dijalankan ini diharap dapat menjadi asas kepada penyelidikan yang lebih mendalam dalam mengenal pasti sumber genetik berpotensi dalam penghasilan varieti toleran banjir.

Summary

In recent years, flash flood becomes one of a major abiotic stress threaten rice granary in Malaysia. Rice required attribute to survive and recover from submergence stress such as rapid coleoptile growth (PK), survival rate (KK), leaf elongation (PD) as well as good physical appearance. Quantitative trait loci (QTL) of *Sub1* gene which was mapped in

chromosomes 9 is believed to be the key controlling factor for submergence tolerant traits. In the study, this associated traits were screened among 80 genotypes of traditional rice and two genotypes of modern rice (MR219 and MR284) while submergence tolerant variety used is IR64 *Sub1*. *Sub1* QTL was also analysed by polymerase chain reaction (PCR) using selected single sequence repeat (SSR) markers. As a result, eight accession of traditional rice identified namely MR284, Mayang Ambur, Pulut Butir Nangka, Ketitir, Langsat, Anak Kerengga, Campa and Pak Ahmad showed phenotypic characters associated with submergence tolerance. However, DNA phenotyping showed none of this genotype have similarity with IR64 *Sub1*. Results from this screening may assist other researcher in exploring and unlocking a potential genetic resources in developing submergence tolerance variety.

Pengarang

Muhammad Shafie Md Sah

Pusat Penyelidikan Agrobiodiversiti dan Persekitaran, Ibu Pejabat MARDI

Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

E-mel: shafiems@mardi.gov.my

Noraziyah Abd. Aziz Samsudin dan Mohd Ikmal Asmuni

Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia,

43600 Bangi, Selangor

Ahmad Hafiz Baharom, Mohamad Zulkiffely A Rahman dan

Mohd Azhar Hassan

Pusat Penyelidikan Horitkultur, Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM

43400 Serdang, Selangor

