

Aplikasi penanda berfungsi dalam program pembaikbakaan untuk kawalan penyakit karah padi

(Application of functional marker in breeding programme for blast disease control)

Mohamad Zulfadli Kamarudin, Mohd Shahril Firdaus Ab Razak, Nor Helwa Ezzah Nor Azman, Alny Marlynni Abd Majid, Rahiniza Kamaruzaman dan Siti Norsuha Misman

Pengenalan

Padi adalah makanan ruji rakyat Malaysia dan sumber kanji utama bagi kebanyakan penduduk di dunia yang memainkan peranan penting dalam aspek keselamatan makanan negara. Tahap sara diri (SSL) di Malaysia adalah sekitar 72% daripada jumlah keseluruhan penduduk di Malaysia. Jumlah keseluruhan kawasan tanaman padi di Malaysia pada tahun 2018 ialah 689,810 hektar dengan anggaran hasil pengeluaran padi ialah 3,064,822 tan metrik padi mengikut data yang dikeluarkan oleh Jabatan Pertanian Malaysia. Daripada jumlah tersebut, hanya 1,975,770 juta tan metrik beras sahaja yang berjaya dihasilkan. Pada tahun (2018), Jabatan Pertanian Malaysia mengeluarkan data yang dianggarkan sekitar 296,000 petani padi bergantung sepenuhnya dengan menanam padi untuk menyara hidup di Malaysia.

Pesawah padi mampu mencapai hasil sekitar 9 – 10 t/ha, namun potensi hasil akan berkurangan lebih 50% sekiranya terdapat serangan wabak penyakit terutamanya penyakit karah padi. Penyakit karah merupakan penyakit utama yang mengancam pengeluaran hasil padi. Penyakit ini disebabkan oleh kulat (*Magnaporthe oryzae*) yang menyerang padi dan memusnahkan hampir 100% hasil padi bagi sesetengah petani. Penyakit karah bermula dengan simptom lesi yang berbentuk intan dan merebak ke seluruh daun apabila serius dan seterusnya menyebabkan daun kering serta pokok mati. Kulat ini mampu menyerang pada semua peringkat pertumbuhan daripada anak benih, peringkat vegetatif mahupun pada peringkat produktif. Pemerhatian pada peringkat awal di mana serangan pada daun padi menyebabkan daun padi akan kelihatan kering dan kemudiannya mati. Pada peringkat terbit tangkai pula, kelihatan tangkai padi akan mulai mereput dan tidak ada isi pada biji padi dan lebih dikenali dengan penyakit reput tangkai.

Pada tahun 2015, Jabatan Pertanian Malaysia melaporkan sebanyak 43% kawasan jelapang dan bukan jelapang menunjukkan peratusan tertinggi tanaman padi yang dijangkiti oleh penyakit karah berbanding dengan penyakit lain. Kawasan yang paling tinggi direkodkan di Lembaga Kemajuan Pertanian Kemubu (KADA) diikuti oleh Lembaga Kemajuan Pertanian Muda (MADA) dan IADA Barat Laut Selangor. Sebanyak 1,453 hektar sawah

dilaporkan dijangkiti oleh karah daun, 957 hektar dijangkiti oleh karah tangkai pada tahun 2017 dan jangkitan paling teruk dicatatkan di Kodiang, Kedah. Selain itu, MADA merekodkan kira-kira 10.068 hektar sawah padi yang dijangkiti oleh karah padi pada tahun 2017. Walaupun sawah yang dijangkiti hanya 10% daripada keseluruhan kawasan seluas 100,685 hektar padi di MADA, dianggarkan kira-kira 60,000 tan metrik jumlah pengeluaran hasil padi dijangkiti. Serangan ini menyebabkan kerugian yang ketara kepada hasil pendapatan pesawah padi terutamanya kepada pesawah yang bergantung sepenuhnya kepada hasil jualan padi.

Kawalan penyakit karah padi

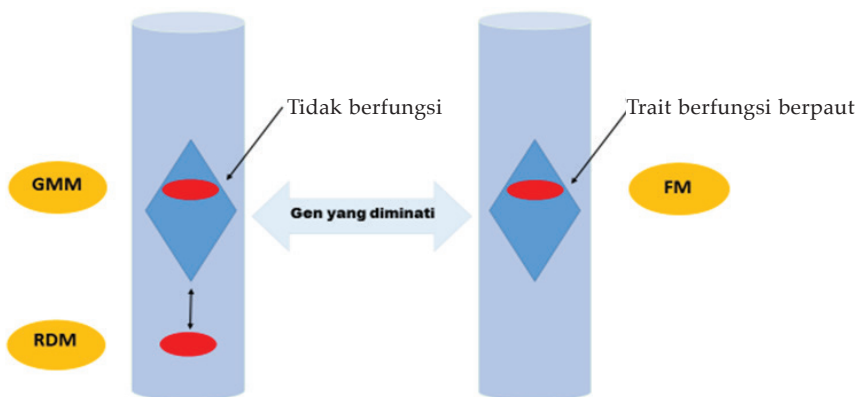
Terdapat kaedah lain pengurusan penyakit karah di kawasan penanaman padi iaitu kaedah kawalan kimia. Namun begitu, kaedah ini tidak mesra alam dan kebanyakan pesawah di Malaysia mengamalkan penggunaan racun kimia yang harganya agak mahal dan membahayakan alam sekitar. Penanaman varieti yang rintang terhadap penyakit karah adalah mesra alam dan menjimatkan untuk mengawal penyakit ini. Pembaikbakaan tanaman padi yang menggunakan kaedah konvensional kebanyakannya digunakan di Malaysia, tetapi terdapat kelemahan daripada maklumat gen kerintangan yang terdapat dalam satu varieti padi. Penggunaan penanda molekul membolehkan saringan yang lebih tepat dan konsisten dapat dijalankan berbanding dengan pemilihan konvensional. Teknologi penanda molekul membolehkan piramida gen kerintangan karah dapat dijalankan yang dijangka akan memanjangkan jangka hayat kerintangan suatu varieti selepas dikomersialkan. Namun begitu, keberkesanan dan kecekapan pembaikbakaan berbantuan penanda molekul (MAB) bergantung kepada kualiti dan jenis penanda DNA yang digunakan. Antara penanda DNA yang sedia ada sekarang ialah penanda ulangan jujukan ringkas (SSR), polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) dan polimorfisme panjang serpihan penyekatan (RFLP). Walau bagaimanapun, apabila penanda tersebut digunakan untuk pemilihan berbantuan penanda dalam pembaikbakaan tanaman, ia mungkin mempunyai beberapa batasan kerana penggabungan semula genetik yang akan menimbulkan positif palsu. Oleh itu, penanda berfungsi [*functional marker* (FM)] merupakan alternatif kepada penanda DNA sedia ada yang lebih bermakna dalam pembaikbakaan tanaman.

Aplikasi FM untuk kawalan penyakit karah

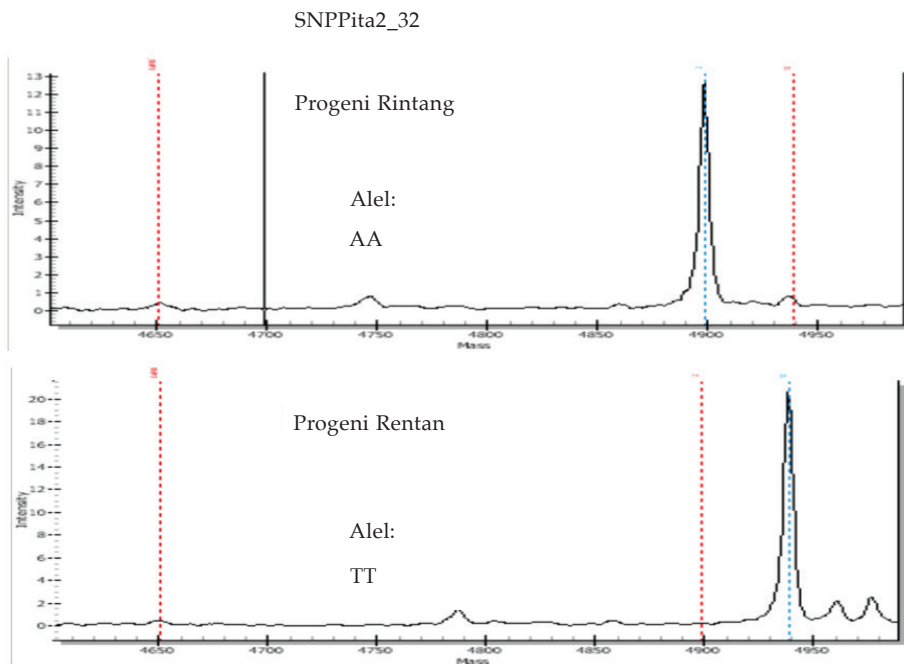
Penanda berfungsi dikembangkan daripada motif gen berfungsi yang mempunyai kaitan lengkap dengan alel yang dikehendaki. FM diperoleh daripada jujukan polimorfisme yang terdapat dalam varian alel gen berfungsi. Pemetaan asosiasi berasaskan ketidakseimbangan kaitan dan rekombinan homolog telah dibangunkan untuk mengenal pasti penanda berfungsi ini untuk kegunaannya dalam pembaikbakaan tanaman. Berbanding dengan

penanda molekul lain, penanda berfungsi diperoleh daripada gen urutan yang dicirikan secara berfungsi menggunakan penjujukan generasi hadapan (NGS). Oleh kerana hubungan FM adalah secara terus dengan gen yang disasarkan, ketiadaan rekombinasi antara penanda dan gen, proses pemilihan yang tepat akan diperoleh. Pengesahan saringan secara fenotipik dalam MAB yang menggunakan penanda DNA rawak/pengapit adalah diperlukan untuk memastikan gen yang disasarkan dan penanda molekul dipindahkan bersama dengan progeni kerana rekombinasi antara penanda dan gen masih boleh berlaku. Namun, dengan menggunakan penanda berfungsi ini, pengesahan fenotipik tidak perlu dilakukan lagi (*Rajah 1*). Oleh itu, FM lebih cekap, efisien dan tepat berbanding dengan penanda DNA rawak/pengapit dalam aplikasi MAB.

FM dibangunkan daripada laman polimorfik dalam gen yang menyebabkan variasi fenotipik. Mengambil kira kelebihan ini, Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, MARDI Serdang telah membangunkan FM bagi gen *Pita2*. Dalam kajian ini, penanda SNP dikenal pasti di kawasan gen *Pita2*, hasil perbandingan jujukan DNA gen *Pita2* bagi varieti IRBLta2-Re dan MR211. Penanda ini kemudian digenotip ke atas populasi pemetaan F2 yang dibangunkan hasil kacukan IRBLta2-Re dengan MR 211. Data genotip ini kemudiannya akan dianalisis bersama-sama dengan data fenotip daripada generasi F2:3 bagi tujuan korelasi data genotip dan data fenotip. Didapati satu penanda SNP yang tidak sinonim (SNPPita2_32) telah dikenal pasti bertanggungjawab terhadap kerintangan penyakit karah bagi gen kerintangan *Pita2*. Pokok yang rintang akan membawa alel A manakala pokok yang rentan akan membawa alel T (*Rajah 2*). Mutasi pada SNP ini akan menyebabkan perubahan asid amino daripada lisin ke leusin. Perincian mengenai SNPPita2_32 adalah seperti dalam *Jadual 1*. Pembangunan penanda berfungsi bagi *Pita2* ini dapat membantu dalam proses pemilihan yang lebih tepat, efisien dan efektif di dalam MAB.



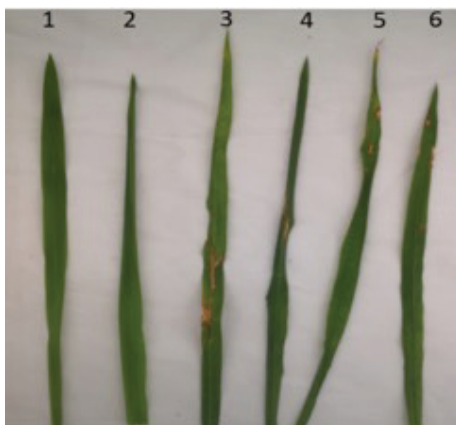
Rajah 1. Penanda berfungsi (FM) berkait rapat dengan ciri fenotip berbanding dengan penanda DNA rawak (RDM) dan penanda molekul gen (GMM)



Rajah 2. Alel bagi progeni rintang dan rentan yang mana progeni rintang akan membawa alel A manakala progeni rentan akan membawa alel T

Jadual 1. Perincian SNPPita2_32

ID SNP	Gen	Alel rintang	Alel rentan	Perubahan nukleotida
SNPPita2_32	LOC_Os12g18729	A	T	AAA<->AAT



Gambar 1. Titisan 1 dan 2 membawa alel rintang terhadap karah (alel AA) manakala titisan 3, 4, 5 dan 6 membawa alel rentan (alel TT) terhadap penyakit karah

Pembangunan penanda berfungsi bagi *Pita2* ini dapat membantu dalam proses pemilihan yang lebih tepat, efisien dan efektif di dalam MAB. Gambar 1 menunjukkan efisiensi penggunaan penanda SNPPita2_32 yang dapat membantu para pembaik baka padi dalam membangunkan varieti baharu yang melalui pemilihan progeni yang membawa gen *Pita2*.

Kesimpulan

Kajian ini telah memfokuskan kepada pembangunan penanda berfungsi bagi gen kerintangan terhadap karah, *Pita2*. Satu penanda SNP, SNPPita2_32 telah dikenal pasti sebagai penanda berfungsi dalam mengawal atur kerintangan terhadap

karah. Penggunaan penanda berfungsi ini dapat membantu proses pemilihan dalam program pembaikbakaan dan meningkatkan lagi ketepatan serta kejitian proses pemilihan dalam membangunkan varieti yang rintang terhadap penyakit karah.

Penghargaan

Penulis ingin mengucapkan jutaan terima kasih kepada kerajaan Malaysia kerana memberi peruntukan bawah Projek Pembangunan MARDI. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih bagi sesiapa yang terlibat secara tidak langsung dalam menjayakan projek dan penulisan ini.

Bibliografi

- Ashkani, S. dan Rafii, M.Y. (2015). Molecular breeding strategy and challenges towards improvement of blast disease resistance in rice crop. *Frontier in Plant Science* 6: 1 – 14
- Fetene, D.Y. (2019). Review of the rice blast diseases (*Pyricularia oryzae*) response to nitrogen and silicon fertilizers. *International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences* 5(5): 37 – 44
- Lau, W., Rafii, M., Ismail, M., Puteh, A., Latif, M. dan Ramli, A. (2015). Review of functional markers for improving cooking, eating, and the nutritional qualities of rice. *Frontier in Plant Science* 6: 1 – 11
- Miah, G., Rafii, M., Ismail, M., Puteh, A., Rahim, H., Islam, K. dan Latif, M. (2013). A review of microsatellite markers and their applications in rice breeding programs to improve blast disease resistance. *International Journal of Molecular Sciences* 14(11): 22,499 – 22,528
- Nurulnihar, E., Adam, P., Mazidah, M., Roslan, I. dan Rafii, Y.M. (2020). Rice blast disease in Malaysia: Options for its control. 48: 11 – 23
- Ramkumar, G., Srinivasarao, K., Mohan, K.M. et al. (2011). Development and validation of functional marker targeting an InDel in the major rice blast disease resistance gene Pi54 (Pik h). *Molecular Breeding* 27(1): 129 – 135
- Salgotra, R. dan Stewart, C. (2020). Functional markers for precision plant breeding. *International Journal of Molecular Sciences* 21(13): 4792
- Tanweer, F.A., Rafii, M.Y., Sijam, K., Rahim, H.A., Ahmed, F., dan Latif, M.A. (2015). Current advance methods for the identification of blast resistance genes in rice. *Comptes Rendus Biologies* 338(5): 321 – 334

Ringkasan

Padi merupakan tanaman utama di Malaysia dan menjadi sumber makanan harian bagi rakyat Malaysia dan kebanyakan penduduk di dunia. Walau bagaimanapun, terdapat cabaran dan halangan dalam penanaman padi iaitu serangan perosak dan penyakit yang mampu mengakibatkan ekonomi para petani terjejas dan sekali gus mengurangkan kadar sara diri nasional. Penyakit karah merupakan penyakit yang serius dan perlu diambil perhatian oleh para petani. Oleh itu, program pembaikbakaan padi menjadi pilihan terbaik untuk mengawal penyakit karah ini. Pembangunan penanda berfungsi bagi gen kerintangan terhadap karah, *Pita2* telah dibangunkan untuk mempertingkatkan program MAB. Satu penanda SNP iaitu SNPPita2_32 juga telah dibangunkan sebagai penanda berfungsi bagi gen *Pita2* yang bertanggungjawab mengawal kerintangan terhadap penyakit karah padi. Kesimpulannya, pembangunan penanda berfungsi bagi *Pita2* ini dapat membantu proses pemilihan yang lebih tepat, efisien dan efektif di dalam MAB.

Summary

Paddy is a major crop in Malaysia and is a source of daily food for Malaysians and most of the world's population. However, there are challenges in paddy cultivation, which are pests and diseases that can cause the farmers' economy to fall and at the same time reduce the national self-sufficiency rate. Blast is a serious disease in paddy cultivation and should take action by the farmers. Therefore, rice breeding programme is the best option to control blast infestation. Development of a functional marker of blast targeting, *Pita2* gene was developed in order to enhance MAB programme. A SNP marker, namely SNPPita2_32 was identified as functional marker targeting *Pita2*, a gene responsible for controlling resistance against rice blast disease. In conclusion, the developed functional markers for *Pita2* provide more accurate, efficient and effective in selection process during MAB.

Pengarang

Mohamad Zulfadli Kamarudin

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Mohd Shahril Firdaus Ab Razak, Nor Helwa Ezzah Nor Azman dan
Aly Marlynni Abd Majid

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Rahiniza Kamaruzaman dan Siti Norsuha Misman (Dr.)

Pusat Penyelidikan Padi dan Beras, MARDI Seberang Perai
13200 Kepala Batas, Pulau Pinang