

## PENGESANAN INTROGRESI GENOM SPESIES LIAR PADI MELALUI ANALISIS ISOENZIM

<sup>1</sup>Narimah Md. Kairudin, <sup>1</sup>Lim Siew Ling & <sup>2</sup>Mariam Abdul Latip

<sup>1</sup>Jabatan Genetik, Fakulti Sains Hayat,  
Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 Bangi, Selangor.

<sup>2</sup>Sekolah Sains Dan Teknologi, Universiti Malaysia Sabah  
Beg Berkunci 2073, 88999 Kota Kinabalu.

**ABSTRAK.** Elektroforesis enzim telah digunakan untuk mengesan introgresi genom spesies liar dalam hibrid  $F_1$  dan progeneri-progeneri kacuk balik daripada kacukan luas antara *O. minuta* ( $2n=4x=48$ , BBCC) dan *O. sativa* L. ( $2n=24$ , AA). Tiga sistem enzim, iaitu Esterase (*Est*), Malate dehidrogenase (*Mdh*) dan fosfoglukosa isomerase (*Pgi*) telah dianalisis. Jalur-jalur spesifik yang dapat membezakan *O. minuta* daripada *O. sativa* digunakan sebagai penanda untuk mengesan introgresi. Resolusi jalur pada generasi  $F_1$  menunjukkan keadaan triploid dengan komposisi genom ABC. Bilangan dan frekuensi jalur spesifik *O. minuta* dalam progeneri kacuk balik berkurangan daripada 56% pada  $F_1$ , kepada 47% dalam  $KB_1$ , 33% pada  $KB_2$ , dan akhirnya 13% pada  $KB_3$ .

**KATA KUNCI.** *Oryza minuta*, *Oryza sativa*, elektroforesis enzim, introgresi

**ABSTRACT.** The enzyme electrophoresis technique was used to detect intergression of the wild genome in the  $F_1$  hybrid and backcross progenies of the wide hybridization between *Oryza minuta* ( $2n=4x=48$ , BBCC) and *O. sativa* L. ( $2n=24$ , AA). Three enzyme systems, i.e. Esterase (*Est*), Malate dehydrogenase (*Mdh*) and Phospoglucose isomerase (*Pgi*) were analyzed. The specific bands of *O. minuta* were used as markers. The band resolution in the  $F_1$  generation showed the composition of triploid ABC genome. The number and the frequency of *O. minuta* specific bands had decreased from 56% in the  $F_1$ , to 47% in the  $BC_1$ , to 33% in the  $BC_2$  and 13% in the  $BC_3$ .

**KEYWORDS.** *Oryza minuta*, *Oryza sativa*, enzyme electrophoresis enzim, introgression

## PENGENALAN

Spesies-spesies liar memainkan peranan penting dalam program pembaikan tanaman. Mengikut Harlan (1976), saudara-saudara liar ini adalah sumber penting bagi gen-gen rintang penyakit dan perosak. Kaedah konvensional pemindahan gen daripada spesies liar kepada spesies tanaman ialah melalui kacukan luas atau kacukan interspesifik. Pada asasnya terdapat banyak halangan dalam kacukan luas, tetapi dengan kemajuan dalam kaedah manipulasi kromosom dan teknik kultur tisu, beberapa kejayaan telah dilaporkan (Khush dan Brar, 1992).

Tujuan utama program kacukan luas ialah untuk memindahkan gen-gen tertentu yang diinginkan daripada spesies liar. Oleh itu kacukan luas akan diikuti oleh siri kacuk balik kepada induk berulang untuk mendapatkan semula genom induk berulang dengan tambahan gen-gen tertentu daripada induk penderma. Kacukan luas hanya dianggap berjaya apabila gen-gen yang diinginkan daripada spesies liar telah diintrogressi ke dalam progeni-progeni kacuk balik.

Beberapa penanda genetik boleh digunakan untuk mengesan introgressi gen asing ini. Penanda-penanda yang biasa digunakan ialah penanda morfologi, sitologi dan biokimia (Asidue *et al.* 1989; Melchinger 1990). Penanda morfologi mudah dikenalpasti melalui cerapan mata kasar, tetapi penggunaannya adalah terhad akibat pengaruh sekitaran, tindakan gen dominan dan epistasis dan secara relatifnya kurang polimorfisme (Asidue *et al.* 1989; Tanksley *et al.* 1989).

Penanda sitologi adalah berdasarkan nisbah saiz dan lengan kromosom, satelit dan cerutan sekunder. Walau bagaimanapun penggunaan penanda sitologi adalah terhad kepada spesies tanaman yang mempunyai kromosom yang besar. Oleh itu, beberapa penyelidikan telah menggunakan teknik elektroforesis isoenzim untuk mengesan introgressi genom spesies liar dalam progeni-progeni yang dihasilkan daripada kacukan luas. Contohnya, Tanksley dan Rick (1990) telah menggunakan analisis isoenzim untuk mengesan genom asing dalam kacukan interspesifik tomato. Teknik yang sama juga telah digunakan dalam "tall fescue" (Eizenge *et al.* 1990) dan "sugarbeet" (Oleo *et al.* 1986).

IRRI (1991) melaporkan tujuh lokus isoenzim telah dapat dikesan dalam progeni-progeni yang dihasilkan daripada kacukan luas antara *O. sativa* dan *O. latifolia*. Selanjutnya, Romero *et al.* (1993) mendapati introgressi genom liar telah dapat dikesan melalui pengesanan lokus Sdh-1, Pgd-2, Pgi-1 dan Pgi-2 dalam progeni-progeni disomik daripada kacukan luas antara *O. minuta* dan *O. sativa*.

Dalam kajian ini, tiga sistem enzim, iaitu Esterase (Est), Malate dehidrogenase (Mdh) dan Fosfoglukosa isomerase (Pgi) telah dianalisis secara elektroforesis untuk mengesan kehadiran genom *O. minuta* dalam hibrid  $F_1$  dan progeni kacuk balik yang terhasil daripada kacukan luas *O. minuta* x *O. sativa* var. MR1.

## BAHAN DAN KAEDAH

### Bahan:

Bahan yang digunakan dalam kajian ini ialah *O. minuta* (padi liar), *O. sativa* varieti MR1 dan sebahagian daripada progeni-progeni hasil kacukan luas antara kedua-dua spesies daripada kajian Mariam *et al.* (1996). Tujuan asal kajian mereka ialah untuk memindahkan gen rintang terhadap penyakit hawar bakteria daripada *O. minuta* kepada *O. sativa*. Penyakit ini disebabkan oleh *Xanthomonas campestris* pv. *Oryze*. Progeni-progeni yang digunakan ialah satu pokok hibrid F<sub>1</sub>, tiga pokok kacuk balik pertama (KB<sub>1</sub>) empat pokok kacuk balik kedua (KB<sub>2</sub>) dan satu pokok kacuk balik ketiga (KB<sub>3</sub>).

### Kaedah:

**Penyediaan gel** Gel 10% disediakan dengan mencampurkan 80 ml penimbal gel ke dalam kelalang Buchner yang mengandungi 120.0g kanji kentang terhidrolisis. Campuran digoncangkan untuk mengelakkan pembentukan partikel. Sementara itu, 120 ml penimbal gel yang sesuai dididihkan ke dalam ketuhar gelombang mikro. Penimbal gel yang telah mendidih dituangkan ke dalam ampaian kanji dan digoncang sehingga membentuk koloid yang sekata.

Cecair gel dinyahgas dengan pam vakum dan kemudian dituangkan ke dalam acuan perspek berukuran 17.5 cm x 13.0 cm x 1.0 cm yang dikepit pada kepingan kaca berukuran 22.0 cm dan 16.0 cm. Gel didedahkan pada suhu bilik selama lebih kurang 20 min, dan gel yang telah sejuk dibalut dengan plastik untuk mengelakkan pengontangan. Gel yang telah dibalut dibiarkan semalaman pada suhu bilik.

**Penyediaan sampel** Bagi varieti MR1 bahagian plumul daripada anak cambah yang berumur 4-10 hari digunakan untuk ekstraksi enzim. Bagi *O. minuta*, hibrid F<sub>1</sub>, KB<sub>1</sub>, KB<sub>2</sub> dan KB<sub>3</sub>, enzim diekstrak daripada pucuk muda.

Tisu plumul dan pucuk segar ini dimasukkan ke dalam beg plastik dan disimpan pada suhu bilik 4°C (dalam ais). Seterusnya sampel dibasuhkan dengan air, dikeringkan dengan kertas tisu dan disimpan dalam peti sejuk pada suhu 20°C.

Sebanyak 1.0g sampel dikisar dalam motar dengan sedikit cecair nitrogen sehingga menjadi serbuk. Serbuk sampel kemudian dihomogenkan bersama 1.0 ml air suling sejuk yang mengandungi 0.1% 2-mercaptoetanol sehingga tisu menjadi homogenus. Sampel lumat kemudian dipindahkan ke dalam tiub eppendorf bersaiz 1.5 ml yang telah dilubangkan bahagian bawahnya dan dilapisi dengan kapas sebagai penapis. Tiub ini kemudiannya dimasukkan ke dalam tiub eppendorf yang lain sebagai penakung dan diempar dengan kelajuan pada 7000 rpm selama 20 min pada 4°C. Proses ini bertujuan untuk memisahkan

hampas tisu daripada ekstrak yang mengandungi enzim. Supernatan diambil dan disimpan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  untuk elektroforesis.

Kertas turus Whatman No.3 digunakan untuk menyerap supernatan, yang kemudiannya diselitkan secara menegak pada gel. Tempat penyelitan ialah garisan permulaan pergerakan. Bromofenol biru digunakan sebagai penanda pergerakan.

**Elektroforesis** Elektroforesis dijalankan dari katod ke anod dengan arus malar 45mA untuk Est dengan penimbal litium, 60mA untuk Mdh dengan penimbal morfolin sitrik dan 55mA untuk Pgi dengan penimbal histidin. Elektroforesis dijalankan dalam peti sejuk pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$ . Arus diberhentikan apabila penanda bromofenol biru bergerak lebih kurang 12 cm dari garisan permulaan.

**Pewarnaan** Selepas elektroforesis diberhentikan, gel dipotong secara mendatar dan kemudian dieram dalam larutan pewarna yang sesuai dengan sistem isoenzim pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  sehingga jalur muncul. Kepingan gel yang telah diwarnakan ditetapkan dalam penimbal penetapan 5:5:1, metanol:air:asid asetik glasil 100% untuk memberhentikan aktiviti enzim.

**Interpretasi zimogram** Gel yang mempunyai jalur dinamakan zimogram. Untuk setiap enzim yang dikaji zimogram dipersembahkan dalam bentuk gambarfoto dan rajah. Setiap jalur pada zimogram ditentukan nilai Rf dengan menggunakan formula berikut:-

$$Rf = \text{Jarak migrasi jalur} / \text{Jarak migrasi bromofenol biru}$$

Sistem pelabelan lokus isoenzim Est, Mdh dan Pgi untuk varieti MR1 adalah mengikut kaedah Glaszman *et al.* (1988) dan Romero *et al.* (1993). Jalur spesifik *O. minuta* pula dilabelkan dengan huruf "M" dan diikuti dengan nombor berdasarkan kemobilan.

## HASIL

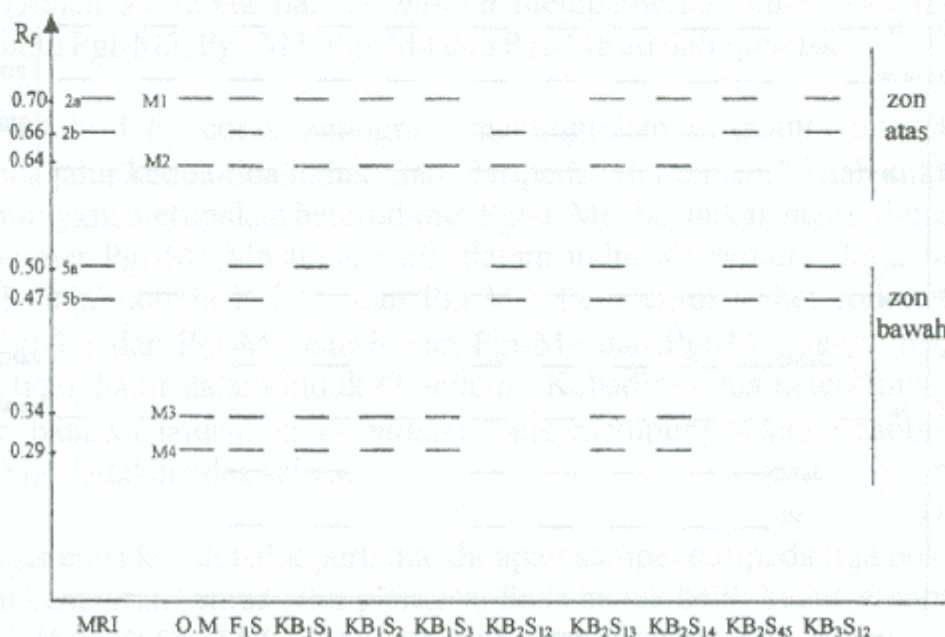
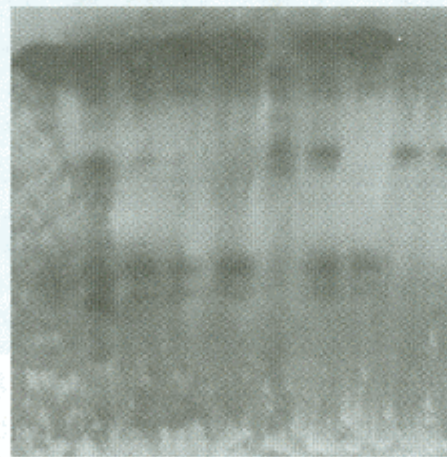
### Esterase

Rajah 1 menunjukkan resolusi zimogram bagi esterase. Varieti MR1 mempamerkan dua jalur, Est-2a dan Est-2b pada zon atas dan dua jalur, Est-2a dan Est-5b pada zon bawah. Induk liar, *O. minuta* mempunyai dua jalur pada atas, iaitu Est-M1 dan Est-M2 dan dua jalur pada zon bawah yang dilabel Est-M3 dan Est-M4. Daripada Rajah 1 dapat dilihat bahawa jalur-jalur Est-M2, Est-M3 dan Est-M4 adalah spesifik, maka jalur-jalur tersebut digunakan sebagai penanda.

Hibrid F<sub>1</sub> yang menunjukkan kehadiran semua jalur daripada kedua-dua induk (Rajah 1). Selanjutnya pada generasi kacuk balik yang pertama, didapati ketiga-tiga pokok yang

digunakan di dalam kajian ini ( $KB_1S_1$ ,  $KB_1S_2$  dan  $KB_1S_3$ ) mempamerkan kehadiran ketiga-tiga penanda daripada *O. minuta*.

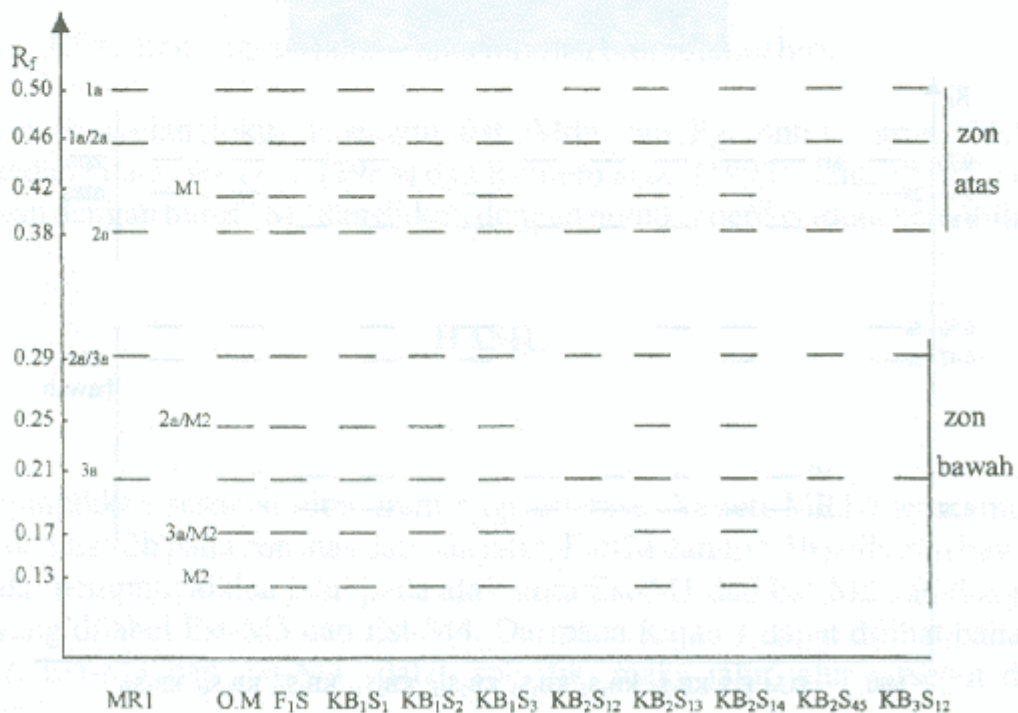
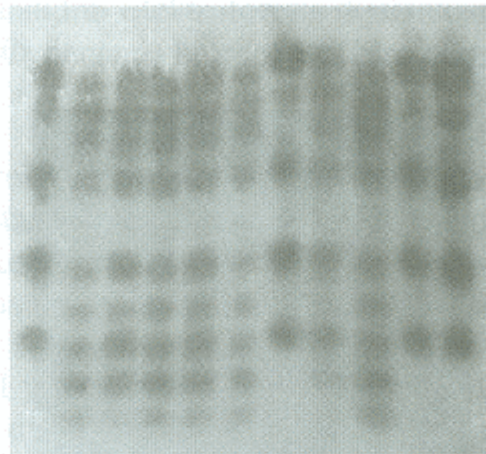
Dua pokok kacuk balik kedua iaitu  $KB_2S_{13}$  dan  $KB_2S_{14}$  menunjukkan kehadiran ketiga-tiga jalur penanda. Manakala pokok  $KB_1S_{45}$  tidak menunjukkan kehadiran sebarang jalur penanda. Bagi pokok  $KB_2S_{12}$  yang mempunyai 24 kromosom dan morfologi yang serupa seperti MR1 mempamerkan satu jalur penanda iaitu Est-M2. Pokok  $KB_3S_{12}$  yang dihasilkan daripada kacukan antara  $KB_2S_{12}$  dengan MR1, didapati tidak mempamerkan sebarang jalur penanda.



Rajah 1. Fenotip elektroforesis Esterase bagi varieti MR1, *O. minuta* (O.M), hibrid  $F_1$  ( $F_1S$ ), kacuk balik pertama ( $KB_1S_1$ ,  $KB_1S_2$  dan  $KB_1S_3$ ), kacuk balik kedua ( $KB_2S_{12}$ ,  $KB_2S_{13}$ ,  $KB_2S_{14}$  dan  $KB_2S_{45}$ ) dan kacuk balik ketiga ( $KB_3S_{12}$ ).

### Malate Dehidrogenase

Zimogram untuk Mdh dalam Rajah 2 menunjukkan terdapat dua zon aktiviti, iaitu zon atas dan zon bawah. Varieti MR1 menunjukkan kehadiran dua jalur pada zon atas, iaitu Mdh-1a dan Mdh-2a dan satu jalur, Mdh-3a pada zon bawah. Kajian Romero *et al.* (1993) menunjukkan sistem enzim ini mempunyai struktur kuatener dimer. Maka jalur Mdh-1a/2a dan Mdh-2a/3a dicadangkan sebagai heterodimer pertengahan.



Rajah 2. Fenotip elektroforesis malat dehidrogenase bagi MR1, *O. minuta* (O.M), hibrid F<sub>1</sub> (F<sub>1</sub>S), kacuk balik pertama (KB<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, KB<sub>1</sub>S<sub>2</sub> dan KB<sub>1</sub>S<sub>3</sub>), kacuk balik kedua (KB<sub>2</sub>S<sub>12</sub>, KB<sub>2</sub>S<sub>13</sub>, KB<sub>2</sub>S<sub>14</sub> dan KB<sub>2</sub>S<sub>45</sub>) dan kacuk balik ketiga (KB<sub>3</sub>S<sub>12</sub>).

Induk liar menunjukkan kehadiran tiga jalur pada zon atas iaitu Mdh-2a, Mdh-M1 dan Mdh-1a dan dua jalur pada zon bawah iaitu Mdh-3a dan Mdh-M2. Jalur-jalur Mdh-2a/M2 dan Mdh-3a/M2 boleh dianggap sebagai heterodimer pertengahan. Mdh-M1 dan Mdh-M2 jalur-jalur spesifik yang dapat membezakan *O. minuta* daripada MR1, maka digunakan sebagai jalur penanda.

Hibrid  $F_1$  menunjukkan resolusi jalur yang serupa seperti *O. minuta*. Ini adalah disebabkan oleh semua jalur pada MR1 adalah juga terdapat pada *O. minuta*. Ketidakhadiran heterodimer baru dalam  $F_1$  menunjukkan bahawa pergerakan jalur-jalur *O. minuta* yang mempunyai kemobilitan yang sama dengan jalur-jalur pada MR1 adalah seiras. Resolusi jalur yang serupa juga telah dicerap dalam ketiga-tiga pokok generasi kacuk balik pertama (Rajah 2).

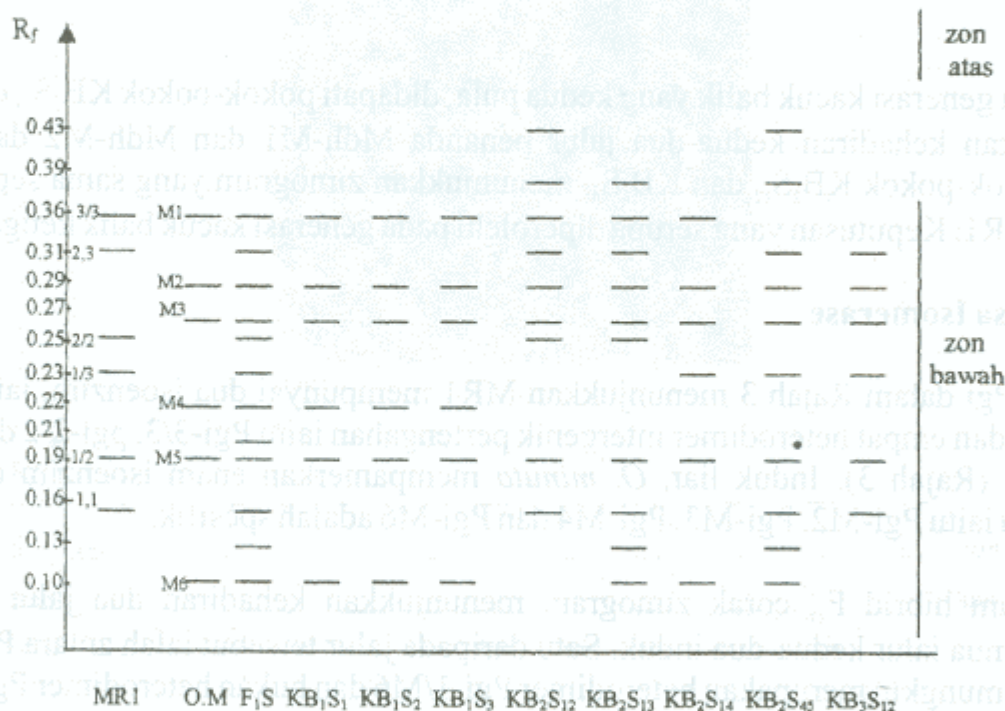
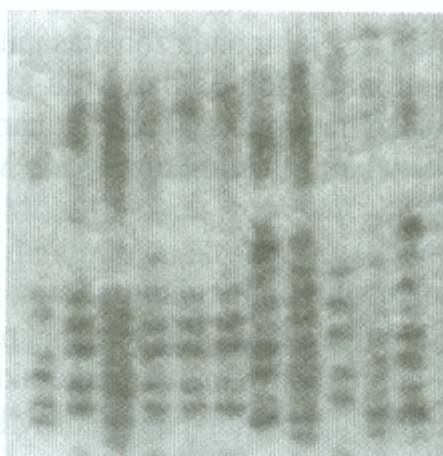
Pada generasi kacuk balik yang kedua pula, didapati pokok-pokok  $KB_2S_{13}$  dan  $KB_2S_{14}$  mempamerkan kehadiran kedua-dua jalur penanda Mdh-M1 dan Mdh-M2 daripada *O. minuta*. Pokok-pokok  $KB_2S_{12}$  dan  $KB_2S_{45}$  menunjukkan zimogram yang sama seperti induk berulang, MR1. Keputusan yang serupa diperolehi pada generasi kacuk balik ketiga.

### Fosfoglukosa Isomerase

Zimogram Pgi dalam Rajah 3 menunjukkan MR1 mempunyai dua isoenzim, iaitu Pgi-1,1 dan Pgi-2,3 dan empat heterodimer intergenik pertengahan iaitu Pgi-3/3, pgi-2/2 dan Pgi-1/3 dan Pgi-1/2 (Rajah 3). Induk liar, *O. minuta* mempamerkan enam isoenzim dan empat daripadanya iaitu Pgi-M2, Pgi-M3, Pgi-M4 dan Pgi-M6 adalah spesifik.

Dalam hibrid  $F_1$ , corak zimogram menunjukkan kehadiran dua jalur tambahan daripada semua jalur kedua-dua induk. Satu daripada jalur tersebut ialah antara Pgi-1,1 dan Pgi-M6. Ini mungkin merupakan heterodimer Pgi-1/M6 dan bukan heterodimer Pgi-M5/M6, sebab heterodimer Pgi-M5/M6 tidak hadir dalam induk *O. minuta*. Jalur tambahan yang kedua pada  $F_1$  ialah antara Pgi-1,1 dan Pgi-M4. Pembentukan heterodimer ini mungkin melibatkan Pgi-1,1 dan Pgi-M4 dan bukan Pgi-M4 dan Pgi-M5, sebab heterodimer Pgi-M4/M5 juga tidak hadir dalam induk *O. minuta*. Kehadiran dua heterodimer baru dalam  $F_1$  menunjukkan bahawa jalur-jalur *O. minuta* yang mempunyai kadar mobiliti yang sama dengan jalur MR1 adalah tidak seiras.

Pada generasi kacuk balik pertama, didapati sampel daripada tiga pokok yang dikaji menunjukkan kehadiran semua jalur penanda. Pada kacuk balik kedua didapati tiga pokok, iaitu  $KB_2S_{13}$ ,  $KB_2S_{14}$  dan  $KB_2S_{45}$  menunjukkan kehadiran jalur-jalur penanda Pgi-M2, Pgi-3 dan Pgi-M6. Pokok  $KB_2S_{12}$  pula menunjukkan kehadiran dua jalur penanda sahaja, iaitu Pgi-M2 dan Pgi-M3. Kedua-dua jalur penanda Pgi-M2 dan Pgi-M3 didapati pada pokok kacuk balik ketiga,  $KB_2S_{12}$  (Rajah 3).



Rajah 3. Fenotip elektroforesis fosfoglukos isomerase bagi varieti MR1, *O. minuta* (O.M), hibrid F<sub>1</sub> (F<sub>1</sub>S), kacuk balik pertama (KB<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, KB<sub>1</sub>S<sub>2</sub> dan KB<sub>1</sub>S<sub>3</sub>), kacuk balik kedua (KB<sub>2</sub>S<sub>12</sub>, KB<sub>2</sub>S<sub>13</sub>, KB<sub>2</sub>S<sub>14</sub> dan KB<sub>2</sub>S<sub>45</sub>) dan kacuk balik ketiga (KB<sub>3</sub>S<sub>12</sub>).

### PERBINCANGAN

*O. minuta* adalah alotetraploid (2n=4x=48, BBCC), manakala *O. sativa* ialah diploid (2n=24, AA). Walau pun kedua-dua spesies ini mempunyai konstitusi genom yang berbeza, tetapi terdapat enam fenotip isoenzim *O. sativa* yang serupa seperti jalur *O. minuta*, iaitu Est-2, Mdh-1a, Mdh-2a, Mdh-3a, Pgi-1/2 dan Pgi-3/3 (Rajah 1, 2 dan 3). Selanjutnya dua heterodimer interspesifik, Mdh-3a/M5 dan Mdh-2a/M2 juga telah dicerap. Keadaan ini menunjukkan terdapatnya homeologi antara genom *O. sativa* dan *O. minuta* seperti yang dicadangkan oleh Romero *et al.* (1993).



Hibrid  $F_1$  yang terhasil daripada kacukan *O. minuta* x *O. sativa* adalah triploid ( $2n=3x=36$ ) yang mengandungi ketiga-tiga genom A, B, C. Kehadiran ketiga-tiga genom dapat dilihat dengan jelas dalam zimogram Est, Mdh dan Pgi, iaitu kesemua jalur-jalur yang terdapat pada kedua-dua induk hadir dalam hibrid  $F_1$ . Secara teori, komposisi genom hibrid  $F_1$  ialah 33% *O. sativa* dan 67% *O. minuta*. Nisbah frekuensi genom berdasarkan frekuensi jalur-jalur spesifik daripada tiga isoenzim di dalam kajian ini ialah 44% *O. sativa* dan 56% *O. minuta* (Jadual 1).

Jadual 1. Min bilangan dan frekuensi jalur spesifik induk MRI dan *O. minuta* dalam hibrid  $F_1$ , kacuk balik pertama ( $KB_1$ ), kacuk balik kedua ( $KB_2$ ) dan kacuk balik ketiga ( $KB_3$ )

Generasi	MRI		<i>O. minuta</i>	
	Min	%	Min	%
$F_1$	15	44	19	56
$KB_1$	10	53	9	47
$KB_2$	12	67	6	33
$KB_3$	13	87	2	13

Hibrid  $F_1$  yang triploid adalah mandul. Oleh itu, penggandaan kromosom kepada heksaploid ( $2n=6x=72$ ) telah dibuat dengan perlakuan kolkisin. Selanjutnya,  $F_1$  dikacuk balik kepada induk MRI untuk menghasilkan generasi  $KB_1$  (Mariam, 1995). Secara teorinya, generasi  $KB_1$  mengandungi 48 kromosom, iaitu dan 36 kromosom daripada  $F_1$  dan 12 kromosom daripada MRI. Walau bagaimanapun, bilangan kromosom dalam pokok-pokok  $KB_1$  yang digunakan dalam kajian ini ialah 46 kromosom dalam  $KB_{1S_2}$  dan  $KB_{1S_3}$ , dan 47 kromosom dalam  $KB_{1S_1}$  (Mariam, 1995). Ini dicadangkan bahawa gamet-gamet daripada  $F_1$  mengandungi 34 atau 35 kromosom. Analisis ke atas nisbah frekuensi jalur-jalur spesifik bagi ketiga-tiga isoenzim menunjukkan pengurangan pada genom *O. minuta* iaitu daripada 56% pada  $F_1$  kepada 47% pada  $KB_1$  (Jadual 1). Oleh yang demikian, kehilangan satu atau dua kromosom pada gamet-gamet daripada  $F_1$  adalah kromosom daripada *O. minuta*.

Generasi  $KB_2$  pula diperolehi daripada kacukan antara pokok-pokok  $KB_1$  dengan MRI. Komposisi genom *O. minuta* semakin berkurangan dalam generasi  $KB_2$ . Jadual 1 menunjukkan bahawa frekuensi jalur spesifik *O. minuta* telah berkurangan daripada 47% dalam  $KB_1$  kepada 33% dalam  $KB_2$ . Mengikut Mariam (1995) bilangan kromosom dalam pokok-pokok  $KB_{2S_{12}}$ ,  $KB_{2S_{13}}$ ,  $KB_{2S_{14}}$  dan  $KB_{2S_{45}}$  ialah 24, 30, 34 dan 46, masing-masing. Dari segi corak zimogram didapati pokok-pokok  $KB_{2S_{13}}$  dan  $KB_{2S_{14}}$  mempunyai semua jalur spesifik daripada *O. minuta*. Manakala pokok  $KB_{2S_{45}}$  tidak menunjukkan kehadiran jalur-jalur penanda bagi Est dan Mdh. Ini mencadangkan bahawa kromosom *O. minuta* yang terdapat pada  $KB_{2S_{13}}$  dan  $KB_{2S_{14}}$  adalah berbeza daripada  $KB_{2S_{45}}$ .

Pokok KB<sub>2</sub>S<sub>12</sub> yang mempunyai 24 kromosom menunjukkan perpasangan kromosom yang normal semasa meiosis (Mariam *et al.* 1996). Ini menunjukkan tidak terdapat kromosom asing dalam pokok tersebut. Walau bagaimanapun, analisis zimogram menunjukkan kehadiran tiga jalur penanda *O. minuta* iaitu Est-M2, Pgi-M2 dan Pgi-M3. Selanjutnya, pokok KB<sub>2</sub>S<sub>12</sub> dikacuk balik dengan MR1 menghasilkan pokok KB<sub>3</sub>S<sub>12</sub>. Analisis zimogram KB<sub>3</sub>S<sub>12</sub> menunjukkan kehadiran dua jalur penanda iaitu Pgi-M2 dan Pgi-M3. Ini mencadangkan bahawa introgresi genom *O. minuta* telah berlaku dalam progeni kacuk balik ini. Keputusan ini adalah selaras dengan kesimpulan daripada kajian Mariam *et al.* (1996). Mereka menyatakan bahawa gen daripada *O. minuta* telah dipindahkan ke dalam *O. sativa*. Kesimpulan mereka adalah berdasarkan sifat sederhana rintang pokok KB<sub>2</sub>S<sub>12</sub> terhadap isolat XO100 *X. campestris* pv. *Oryzae*, sedangkan varieti MR1 adalah rentan terhadap isolat berkenaan. Introgresi ini mungkin berlaku melalui rekombinasi pada generasi F<sub>1</sub> atau KB<sub>1</sub>, di mana Mariam *et al.* (1996) melaporkan sebilangan kecil kiasma telah dicerap pada kedua-dua generasi tersebut. Introgresi juga mungkin berlaku melalui translokasi oleh pemotongan-penggabungan sentrik seperti yang dicadangkan oleh Romero *et al.* (1993).

## PENGHARGAAN

Penyelidikan ini dibiayai oleh Universiti Kebangsaan Malaysia (Projek UKM B/2/97).

## RUJUKAN

- Asiedu, R., N. Ter Kuile, & A. Mujeeb-Kazi. 1989. Diagnostic markers in wheat wide crosses. *In Review Of Advances In Plant Biotechnology, 1985-1988. 2<sup>nd</sup> International Symposium on Genetics Manipulation in Crops.* Edited by A. Mujeeb-Kazi and L.A. Sitch. CIMMYT, Mexico DF, Mexico: 133-144.
- Eizenga, G.C., D.M. Burner, & R.C. Buckner. 1990. Meiotic and isozymic analyses of Tall Fescue X Giant Fescue hybrids and amphiploids. *Plant Breed.* **104**: 202-211.
- Glaszmann, J.C., B.G. De Los Reyes & G.S. Khush. 1988. Electrophoresis variation of isozymes in plumules of rice (*Oryza sativa* L.) – a key to the identification of 76 alleles at 24 loci. *IRRI research paper series* **134(11)**: 3-14.
- Harlan, J.R. (1976). Genetic resources in wild relatives of crops. *Crop Sci.* **16**: 329-333.
- IRRI Progress Report. 1992. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.

- Khush, G.S & D.S. Brar. 1992. Overcoming the barriers in hybridization. *In Distant Hybridization*,: 47-61. Edited by G. Kalloo & J.B. Chowdury. New York: Springer-Verlag.
- Mariam, A.L. 1995. Wide hybridization between *Oryza sativa* L. and *Oryza minuta* Presl.: An attempt to transfer bacterial blight resistance to *O. sativa*. Phd Thesis. Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Mariam, A.L., A.H. Zakri, M.C. Mahani & M.N. Normah. 1996. Interspecific hybridization of cultivated rice, *O. sativa* L. with the wild rice, *O. minuta* Presl. *Theor. Appl. Genet.* **93**: 664-671.
- Melchinger, A.E. 1990. Use of molecular markers in breeding for oligogenic disease resistance. *Plant Breed.* **104**: 1-19.
- Oleo, M., J.P.C. Van Geyt, W. Lange & S.M. De Boch. 1996. Investigation on an interspecific hybrid involving three species of genus *Beta*, with special reference to isozyme polymorphism. *Theor. Appl. Genet.* **73**: 261-266.
- Romero, G.O., A.D. Amante-Bordeous, R.D. Dalmacio, R. Elloran & L.A. Sitch. 1993. Comparative studies of isozymes in *O. sativa*, *O. minuta* and their interspecific derivatives: evidence for homology and recombination. *Theor. Appl. Genet.* **87**(5): 609-615.
- Tanksley, S.D., N.D. Young, A.H. Peterson & M.W. Bonierbale. 1989. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. *Bio/Technology* **7**: 257-264.
- Tanksley, S.D. & Rick, C.M. 1990. Isozymic gene linkage map of tomato: Application in genetics and breeding. *Theor. Appl. Genet.* **57**: 161-170.