

ANALISIS MARKA MORFOLOGI DAN MOLEKULER SIFAT KETAHANAN KEDELAI TERHADAP INTENSITAS CAHAYA RENDAH

Titin Handayani¹⁾, Sarsidi Sastrosumarjo²⁾, Didy Sopandie³⁾,
Suharsono⁴⁾, Asep Setiawan⁵⁾

1) Peneliti Balai Teknologi Lingkungan - Badan Pengkajian dan Penerapan
Teknologi.

2), dan 3) Guru Besar Institut Pertanian Bogor (IPB).

4), dan 5) Staf Pengajar IPB.

Abstract

Availability of molecular marker to identify the important agronomic character of plant is needed to accelerate selection activity of plant. Particularly for the complex quantitatively inherited traits - like e.g. shading tolerance of soybean - the use of such a technique will speed up the process to produce adapted genotypes.

The objective of this research is to identify the linkage of molecular marker RAPD with character of shading tolerance. The morphological specific characters which is correlated to shade tolerance is the number of productive branches. The intensity 75% of artificial shading is optimal level for doing selection of soybean genotypes. The inheritance of shading tolerance of soybean was controlled by gene with full dominant or by two genes pairs with dominant and recessive epistasis. There was no maternal effect in the inheritance to shade tolerance. Heritability value (0.45 – 0.54) indicated that the proportion variation caused by the genetic factors was moderate. Molecular analysis by using RAPD technique showed that UBC153, ROTH 480.01, and ROTH 480.03 primer have polymorphic band that can be used for inheritance study and linkage analysis. All polymorphisms segregated independently of each other. Interval mapping with Mapmaker/QTL indicated that the location of the three QTLs on linkage group were at marker tolerance locus of Roth 480.01-8₁₂₅, Roth 480.03-1₁₂₅, and UBC 153-19₁₂₅.

Kata Kunci : Kedelai, intensitas cahaya rendah, morfologi, RAPD

1. PENDAHULUAN

Kedelai merupakan salah satu komoditas penting dalam hal penyediaan pangan, pakan dan bahan-bahan industri, sehingga telah menjadi komoditas utama dalam pembangunan pertanian di Indonesia (Asadi *et al.*, 1997). Produksi kedelai mengalami penurunan terus-menerus, hingga pada tahun 2003 tercatat impor 814,92 juta ton. Kondisi ini mendorong perlunya swasembada kedelai melalui peningkatan produktivitas dan luas tanamnya, yang diantaranya melalui tumpangsari dengan tanaman perkebunan atau Hutan Tanaman Industri. Penggunaan lahan di bawah tegakan akan lebih mengoptimalkan pemanfaatan lahan yang selama ini belum banyak dimanfaatkan. Di Indonesia terdapat tidak kurang dari 11,5 juta ha areal perkebunan, dimana sekitar 3-4% dari luasan ini merupakan areal tanaman baru yang dapat

dimanfaatkan untuk menanam tanaman sela sampai tanaman pokoknya (Tanaman Belum Menghasilkan) mencapai umur 2-3 tahun. Kendala utama pada lahan semacam ini ialah rendahnya intensitas cahaya. Oleh karena itu diperlukan upaya untuk memperoleh varietas yang adaptif dan berproduksi tinggi pada kondisi semacam ini. Langkah-langkah yang perlu dilakukan ialah: (a) mencari sumber gen toleran terhadap naungan berat 50%-75%, (b) hibridisasi dengan menggunakan genotipe unggul atau galur-galur yang mempunyai sifat agronomis baik sebagai tetua, yang akan diperbaiki sifat toleransinya terhadap naungan, dan (c) uji daya hasil dan adaptasi pada berbagai lokasi.

Kedelai adalah tanaman yang menyukai cahaya penuh. Akan tetapi penelitian tumpangsari kedelai dengan tanaman lain menunjukkan bahwa ada beberapa genotipe dapat tumbuh dengan

produksi tinggi dalam keadaan ternaungi. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa ada beberapa galur/genotipe kedelai toleran terhadap naungan. Dengan demikian dibutuhkan pemuliaan tanaman kedelai untuk seleksi daya toleransi terhadap intensitas cahaya rendah dapat dicapai melalui pengetahuan yang cukup tentang mekanisme fisiologi, karakter morfologi, anatomi dan kontrol genetik daya adaptasi tersebut. Setiap metode mempunyai keunggulan dan kelemahan. Karakterisasi morfologi adalah praktis, cepat dan murah, pengamatan dapat secara visual dan bersifat kuantitatif. Namun dapat ditemui kesulitan karena karakter ini dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Kemajuan dalam bidang biologi molekuler, memungkinkan keragaman genetik suatu populasi dapat diamati pada tingkat DNA. Marka molekuler ini tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Marka molekuler yang telah digunakan dalam program pemuliaan tanaman adalah RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) dan AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh primer yang dapat memberikan polimorfik pada kedelai toleran dan peka, mencari marka spesifik dari analisis segregasi yang dikelompokkan (*Bulk Segregant Analysis*), mencari keterkaitan marka RAPD dengan marka morfologi.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan Kegenetikaan

Tanaman kedelai kultivar Ceneng dan Godek A masing-masing ditentukan sebagai tetua toleran dan peka (Elfarisna, 2000 dan skrining ulang pada percobaan 1). Selanjutnya digunakan dalam persilangan untuk memperoleh populasi dasar F_1 , F_1' , BC_1P_1 , BC_1P_2 dan F_2 . Pengujian dalam naungan menggunakan paranet 75% (hasil optimasi pada percobaan sebelumnya).

2.2. Waktu dan Tempat

Penanaman bahan kegenetikaan dilakukan di Kebun Percobaan IPB Cikabayan, Bogor. Ekstraksi DNA dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pemuliaan Tanaman IPB dan selanjutnya analisis molekuler RAPD dilakukan di Laboratorium Genetika Balai Teknologi Lingkungan, BPP Teknologi di Kawasan PUSPIPEK Serpong, Tangerang.

2.3. Analisis Genetik

Klasifikasi tingkat toleransi tanaman terhadap naungan yang digunakan berdasarkan rentang nilai rata-rata jumlah cabang produktif dari tetua toleran dengan rata-rata jumlah cabang produktif dari tetua peka dengan skor (0) sampai (5) yang dibedakan menjadi kelas toleransi naungan untuk kedua karakter tersebut adalah sebagai berikut.

Skor (0) = Sangat Toleran = jumlah cabang produktif > 4
Skor (1) = Toleran = jumlah cabang produktif = 4
Skor (2) = Agak Toleran = jumlah cabang produktif = 3
Skor (3) = Agak Peka = jumlah cabang produktif = 2
Skor (4) = Peka = jumlah cabang produktif = 1
Skor (5) = Sangat Peka = jumlah cabang produktif = 0

2.4. Analisis Molekuler

Analisis RAPD dilakukan pada populasi F_2 , BC_1P_1 dan BC_1P_2 terdiri dari tiga tahap. Tahap pertama yaitu seleksi primer dengan menggunakan DNA tetua. Primer-primer yang digunakan adalah primer yang memberikan polimorfik terhadap tetua toleran dan peka. Analisis tahap kedua dilakukan melalui metoda BSA (*Bulk Segregation Analysis*). Pengelompokan berdasarkan marka morfologi yang mempunyai korelasi tinggi dengan hasil tanaman yaitu jumlah cabang produktif (percobaan sebelumnya). Terdapat 10 kelompok DNA untuk famili persilangan, yaitu (1) DNA tetua peka; (2) DNA tetua toleran, (3) DNA F_1 ; (4) DNA F_1 resiproknya; (5) Bulk toleran terdiri atas campuran DNA preamplified dari individu-individu tanaman yang sangat toleran dalam populasi BC_1P_1 ; (6) Bulk peka terdiri atas campuran DNA preamplified dari individu-individu tanaman yang sangat peka dalam populasi BC_1P_1 ; (7) Bulk toleran terdiri atas campuran DNA preamplified dari individu-individu tanaman yang sangat toleran dalam populasi BC_1P_2 ; (8) Bulk peka terdiri atas campuran DNA preamplified dari individu-individu tanaman yang sangat peka dalam populasi BC_1P_2 ; (9) Bulk toleran terdiri atas campuran DNA preamplified dari individu-individu tanaman yang sangat toleran dalam populasi F_2 .

Analisis tahap ketiga, setelah diperoleh primer yang menunjukkan polimorfik, selanjutnya dilakukan analisis terhadap individu tanaman dari populasi F_2 . Dalam penelitian ini digunakan sejumlah 158 tanaman.

2.4.1. Isolasi, Pemurnian dan Pengkonsentrasian DNA

DNA genomik diekstraksi dari daun tanaman berumur 2 minggu yang ditumbuhkan di dalam kondisi naungan. Ekstraksi DNA menggunakan metode CTAB (Saghai *et al.*, 1994).

2.4.2 Amplifikasi DNA

Analisis RAPD melalui tahap seleksi primer menggunakan 20 primer acak 10 nukleotida yang terdiri dari 11 primer acak berasal dari kit ROTH Random Primer 270, 280 dan 480 produksi Boehringer Mannheim Germany, serta 9 primer acak produksi University of British Columbia. Tahap awal amplifikasi ini dimulai dengan memeriksa primer yang akan digunakan yaitu primer yang dapat mengamplifikasi DNA total hasil isolasi. Selanjutnya dilakukan optimasi terhadap campuran reaksi dan program amplifikasi PCR untuk memperoleh hasil yang dipastikan konsisten dan dapat diulang.

Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (Perkin Elmer Cetus Thermal Cycler 480), berlangsung selama 45 siklus dengan program PCR tahap I, (pre-PCR) 94 °C selama 5 menit; tahap II, 94 °C selama 1.30

menit; tahap III, 37 °C selama 1.30 menit; tahap IV, 72 °C selama 1.30 menit; dan tahap V, 72 °C selama 5 menit. DNA hasil penggandaan (amplifikasi) setelah ditambah dengan 5 µl bromofenol blue dielektroforesis pada gel agarose 1% dengan tegangan 110 volt selama dua jam.

Pita DNA hasil amplifikasi selanjutnya diamati pada UV transiluminator dan dilanjutkan dengan pemotretan film polaroid.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Analisis Genetik

Hasil uji korelasi antara karakter morfologi dengan hasil, menunjukkan bahwa korelasi terdekat dengan hasil adalah jumlah cabang produktif. Sehingga pengelompokan DNA preamplifikasi dilakukan secara *Bulk Segregation Analysis* berdasarkan karakter morfologi jumlah cabang produktif. Genotipe toleran yang mempunyai jumlah cabang produktif lebih banyak dibandingkan dengan genotipe peka.

Pada Tabel 1 populasi toleran menunjukkan skor (1) dan (2), sedangkan populasi tetua peka masuk dalam skor (5) dan (6). Hal ini membuktikan bahwa kedua tetua yang digunakan mempunyai perbedaan genetik yang jauh.

Tabel 1.
Frekuensi tanaman pada populasi berdasarkan skor toleransi terhadap intensitas cahaya rendah menggunakan karakter jumlah cabang produktif pada persilangan Godek A x Ceneng

Skor	P ₁ (Ceneng)	P ₂ (Godek A)	F ₁ G x C	BCP ₁	BCP ₂	F ₂
0	0	0	0	1	0	7
1	10	0	16	2	0	50
2	18	0	13	17	10	30
3	0	0	0	19	18	41
4	0	5	0	0	10	16
5	0	22	0	0	0	14
N	28	27	29	39	38	158
Rataan	2,356	1,037	1,620	1,436	1,974	1,759
Min	2	0	2	0	0	0
Max	3	2	3	2	3	3
s ²	0,534	1,460	0,958	0,627	0,629	0,948
s	0,731	1,208	0,979	0,787	0,788	0,973
P ₁ vs P ₂	62,86**					

Keterangan: ** = p < 0,01

Populasi F_1 sebagian besar menunjukkan skor kearah tetua toleran. Populasi silang balik dari kedua tetua toleran dan peka menunjukkan sebaran yang berbeda, yaitu silang balik dengan tetua toleran mempunyai skor mengarah kepada tetua toleran dan silang balik dengan tetua peka mempunyai skor mengarah kepada tetua peka.

Pada populasi F_2 nilai skor toleransi yang diperoleh memenuhi semua tingkat toleransi. Keragaman ini menunjukkan adanya segregasi sifat yang diamati dan keadaan ini memungkinkan dibedakannya kelas-kelas fenotip. Pola pewarisan berat kering tanaman padi yang diberi naungan 50% menunjukkan segregasi sifat toleransi berbeda pada persilangan tetua peka x toleran, dan tetua toleran x toleran. Persilangan antara tetua toleran x toleran menghasilkan semua keturunannya toleran. Persilangan antara tetua peka x toleran menghasilkan keturunan yang sangat toleran hingga sangat peka.

Histogram sebaran frekuensi populasi tanaman tetua toleran dan peka, F_1 , BCP_1 , BCP_2 dan populasi tanaman F_2 ditampilkan pada Gambar lampiran 3 menunjukkan sebaran frekuensi tingkat toleran F_2 mempunyai sebaran kontinu dengan dua puncak (bimodal). Dalam suatu karakter kuantitatif ikut serta pengaruh gen mayor, maka akan terlihat adanya sebaran frekuensi dengan puncak lebih dari satu (bimodal atau trimodal) pada generasi memisah (Chandratama *et al.*, 1964). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa karakter kuantitatif yang diamati terlibat pula gen mayor dan bersifat kualitatif.

Sebaran frekuensi populasi tanaman BCP_1 , BCP_2 dan F_2 dilakukan pengujian pola pewarisan melalui uji Khi-Kuadrat dan hasil analisisnya dapat dilihat pada Tabel Lampiran 3. Rasio segregasi yang diuji dengan Khi-Kuadrat menunjukkan tidak berbeda nyata dengan rasio harapan yaitu 13:3 untuk kelas toleran : peka. Rasio segregasi demikian menunjukkan bahwa pola segregasi pada populasi F_2 persilangan Godek A x Ceneng untuk karakter jumlah cabang produktif menggambarkan bahwa sifat toleran terhadap intensitas cahaya rendah dikendalikan oleh dua gen yang diduga bekerja secara dominan dan resesif epistasis. Interaksi antar lokus atau interaksi non alelik pada rasio 13:3 menggambarkan bahwa pemunculan sifat dominan pada satu lokus terhambat oleh kehadiran alel resesif pada lokus lain dan sebaliknya. Uji Khi-Kuadrat dihasilkan pula

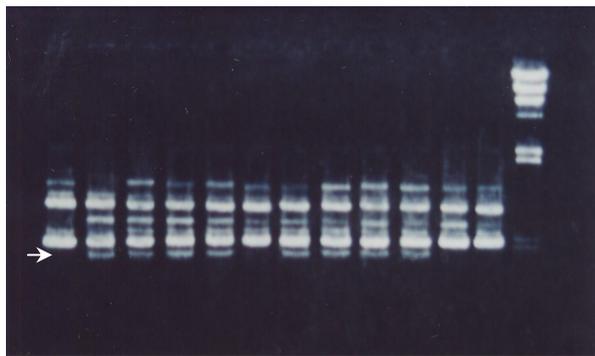
segregasi rasio yang lebih mendekati harapan Mendel yaitu 3:1. Dengan demikian sifat toleransi dikendalikan oleh satu pasang gen yang bekerja secara dominan penuh. Hasil uji Khi-Kuadrat populasi BCP_1 menunjukkan rasio segregasi 3:1 untuk kelas Toleran : Peka. Sedangkan populasi BCP_2 (*testcross*) yaitu persilangan balik dengan tetua homosigot resesif dalam penelitian ini adalah (Godek A x Ceneng) x Godek A menunjukkan rasio segregasi 1:1. (Tabel Lampiran 3). Bila rasio populasi tanaman F_2 untuk kelas toleran dan peka adalah 3:1, maka rasio *testcross* akan menjadi 1:1 (Crowder, 1993).

3.2. Analisis Molekuler

Hasil amplifikasi 20 primer acak (Tabel Lampiran 1) terhadap DNA genom kedelai toleran (Ceneng) dan peka (Godek A) terhadap intensitas cahaya rendah diperoleh 79 fragmen DNA yang berukuran antara 125-4000 pasangan basa UBC menghasilkan 73 fragmen DNA. DNA standar (*ladder*) yang digunakan adalah λ /*HindIII* yang menghasilkan 8 fragmen, masing-masing berukuran 125, 564, 2027, 2322, 4361, 6557, 9416 dan 23130 pasangan basa.

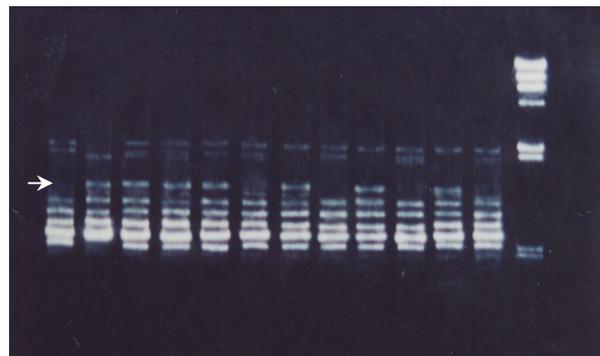
Dari 20 primer acak tersebut 14 diantaranya menunjukkan polimorfisme pada kedua genotipe kedelai, sehingga dapat digunakan untuk menganalisis DNA zuriatnya. DNA preamplifikasi tetua dan zuriatnya dikelompokkan menjadi DNA tetua toleran, tetua peka, F_1 , F_1 resiproknya, BCP_1 toleran, BCP_1 peka, BCP_2 Toleran, BCP_2 peka, F_2 toleran dan F_2 peka.

Dari 20 primer tersebut dijumpai dua jenis primer yaitu ROTH-480.01 dan UBC-153 memperlihatkan adanya polimorfisme amplifikasi pita DNA yang terpaut dan dapat membedakan antar genotipe-genotipe kedelai yang toleran dan peka terhadap intensitas cahaya rendah. Untuk memastikan konsistensi pola pita kandidat yang terpaut dengan toleransi tersebut dilakukan amplifikasi ulang dengan menggunakan kedua primer tersebut dan cetakan DNA atau DNA genom yang berasal dari genotipe-genotipe toleran dan peka. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pola pita yang dimaksud tetap tampak, yaitu primer ROTH-480.01 menghasilkan fragmen DNA berukuran 125 pasang basa, dan primer UBC-153 menghasilkan fragmen DNA berukuran 125 pasang basa (Gambar 1).



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

Gambar 1a



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

Gambar 1b

Gambar 1. Elektroforesis gel agarose hasil amplifikasi DNA genom kedelai dengan primer (a) ROTH-480.01 dan (b) UBC-153. Lajur 13 adalah marka DNA ladder (λ /Hind III). Lajur 1 – 12 adalah genotipe-genotipe kedelai yang dianalisis: (1) Godek A (peka), (2) Ceneng (toleran), (3) F₁ (Godek A x Ceneng), (4) F₁ resiproknya, (5) BCP₁ toleran, (6) BCP₁ peka, (7) BCP₂ toleran, (8) BCP₂ peka, (9) F₂ (Godek A x Ceneng) toleran, (10) F₂ peka, (11) F₂ (Ceneng x Godek A) toleran, dan (12) F₂ (Ceneng x Godek A) peka. Tanda panah menunjukkan posisi fragmen ROTH-480.01 dan UBC-153 yang tidak dimiliki oleh lajur genotipe peka terhadap intensitas cahaya rendah.

Kedua primer tersebut terpaut dengan genotipe kedelai yang toleran terhadap intensitas cahaya rendah, yaitu Ceneng, F₁ (Godek A x Ceneng), F₁ resiproknya, BCP₁ toleran, BCP₂ toleran dan F₂ toleran.

Pada dasarnya pita DNA hasil amplifikasi dihasilkan dari berpasangannya urutan nukleotida primer dengan urutan genom, dan hasil amplifikasi tersebut menggambarkan keseluruhan atau sebagian urutan nukleotida dari DNA genom yang diamati (Tingey *et al.*, 1992). Polimorfisme pita DNA dihasilkan baik oleh perubahan urutan basa yang melekat pada situs penempelan primer atau akibat adanya penyisipan atau pengurangan nukleotida di dalam daerah amplifikasi (Williams *et al.*, 1990). Setiap potongan DNA hasil amplifikasi yang berupa pita DNA dalam gel agarose adalah hasil komplementasi dua oligonukleotida primer pada dua posisi dalam genom. Dalam hal ini primer yang terdiri dari 9-10 nukleotida akan mengamplifikasi $9-10 \times 2$ basa = 18-20 basa dengan posisi yang berlawanan arah. Dengan demikian, suatu reaksi RAPD yang menghasilkan lima (5) pita DNA hasil amplifikasi secara teori menguji ada tidaknya polimorfisme antara 90 – 100 bp sekuensi DNA yang dihasilkan dari penghitungan 5 pita DNA x 18 – 20 basa untuk setiap primer = 90 – 100 basa (Williams *et al.*, 1990). Primer-primer yang digunakan dalam penelitian ini rata-rata menghasilkan 7 pita DNA, sesuai dengan penghitungan di atas maka berarti menghasilkan 7 pita DNA x 18 – 20 basa untuk setiap primer = 126 – 140 basa.

Marker berperilaku sebagai marker yang dominan, yaitu dalam populasi yang bersegregasi,

individu yang homosigot akan sama-sama memberikan hasil pita DNA untuk suatu marker RAPD tertentu. Dengan demikian, satu-satunya individu yang dapat diduga dengan jelas genotipenya adalah homosigot dari tetua lainnya, yang tidak memberikan hasil pita DNA yaitu tidak terjadi amplifikasi DNA sehingga tidak menunjukkan marka dan tidak adanya pita DNA artinya genotipe individu tanaman adalah homosigot resesif (aa). Sedangkan jika ada penampakan pita DNA artinya genotipe individu tanaman adalah homosigot dominan (AA) atau heterosigot (Aa) (Rafalkski *et al.*, 1993). Dengan demikian teknik RAPD kurang tepat digunakan dalam analisis segregasi pada individu F₂. Dalam penelitian ini terbukti bahwa individu-individu yang dikelompokkan sesuai dengan kelas toleransi, yaitu sangat toleran, toleran, agak toleran, agak peka, peka dan sangat peka, marka RAPD spesifik untuk sifat toleransi tidak terdapat pada kelompok genotipe peka dan sangat peka. Sedangkan pada lajur kelompok genotipe sangat toleran, toleran, agak toleran dan agak peka terdapat marka RAPD spesifik untuk sifat toleransi terhadap intensitas cahaya rendah.

Populasi yang paling sesuai untuk penyusunan peta genetik dengan menggunakan marker RAPD, yaitu populasi backcross, F₂ dan rekombinan silang dalam (*recombinant inbreed*). Namun karena marka RAPD yang diperoleh dapat dianalisis keterkaitannya dengan lokus dari karakter yang diinginkan, maka peta keterkaitan antara berbagai marka RAPD dan karakter yang diinginkan dapat langsung ditentukan dengan menggunakan analisis *Bulk segregant (Bulk*

Segregant analysis), sehingga tidak perlu melalui pembuatan peta genetik (Rafalkski *et al.*, 1993).

3.3. Analisis Keterpautan dan Pemetaan Genetik dengan Marka RAPD

Analisis pada individu F₂ ditemukan polimorfisme DNA yang dapat dikelompokkan menjadi 3 tipe dari primer ROTH 480.03, 4 tipe dari primer UBC 153 dan primer ROTH 480.01, yaitu tipe tetua toleran dan peka dan tipe rekombinan (Tabel 2).

Hasil analisis keterpautan menunjukkan bahwa marka-marka primer Roth-480.01, Roth-480.03 dan UBC-153 dapat dikelompokkan menjadi 2, yaitu kelompok keterpautan 1 meliputi marka dengan nomor urut 1, 3, 8, 15, dan 19, sedangkan kelompok keterpautan 2 meliputi marka dengan nomor urut 9, 12, 13 dan 17 (Gambar 2).

4. KESIMPULAN

Uji χ^2 pada individu F₂ untuk karakter jumlah cabang produktif menggambarkan bahwa sifat toleran segregasi rasio sifat toleran yang mendekati harapan Mendel yaitu rasio 3:1 ($p = 75 - 90\%$) dan 13 : 3 ($p = 2,5 - 5\%$). Dengan demikian sifat toleransi dikendalikan oleh satu pasang gen yang bekerja secara dominan penuh atau dua gen yang bekerja secara dominan resesif epistasis.

Analisis molekuler RAPD ditemukan marka spesifik untuk sifat toleran terhadap intensitas cahaya rendah dari primer ROTH-480.01 dan primer UBC-153.

Pemetaan QTL pada individu F₂ dihasilkan 3 QTL mayor yang terpaut dengan marka ROTH-480.03-1, ROTH-480.01-8 dan UBC 153-19.

QTL yang terdeteksi pada kelompok keterpautan 1 kemungkinan merupakan suatu efek pleiotrofi, yaitu satu gen utama yang menghasilkan beberapa ekspresi sifat. Jadi klorofil a, jumlah cabang produktif dan hasil kemungkinan diekspresikan oleh gen yang sama.

Tabel 2.
Kelompok individu F₂ berdasarkan marka RAPD

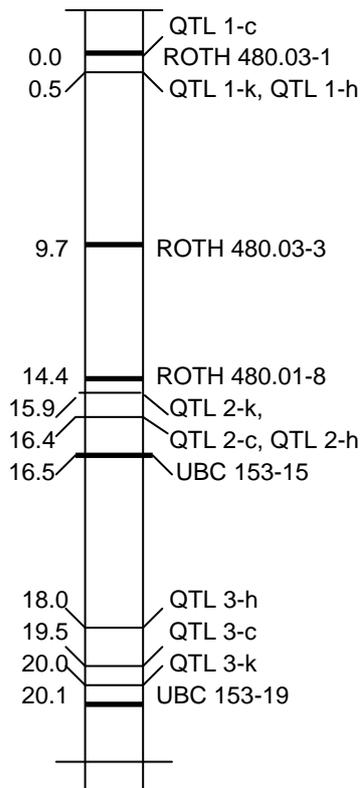
No.	Primer/ Tipe Genotype	Urutan pita DNA (dari atas ke bawah)										Jumlah tanaman	Produksi (g/tanaman)								
		ROTH 480.03					ROTH 480.01							UBC 153							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18		
1	Tipe Tetua Toleran	-	+	+	+	+														99	6,86 – 7,43
2	Tipe Rekombinan 1	-	+	-	+	+														12	3,64 – 6,68
3	Tipe Rekombinan 2	+	+	+	+	+														17	3,58 – 5,02
4	Tipe Tetua Peka	+	+	-	+	+														30	3,71 – 4,56
1	Tipe Tetua Toleran	+	+	+	-	+	+	-												82	6,95 – 7,43
2	Tipe Rekombinan 1	+	+	+	-	+	+	+												7	6,77 – 7,67
3	Tipe Rekombinan 2	+	+	+	+	+	+	+												11	5,99 – 6,79
4	Tipe Rekombinan 3	+																	6	5,46 – 6,01	
5	Tipe Rekombinan 4	+	+	+	+	+	+	+	-											4	4,87 – 6,76
6	Tipe Tetua Peka	+	+	-	-	+	+	-											39	3,71 – 6,88	
		+	+	-	+	+	+	+													
1	Tipe Tetua Toleran	+	-	+	+	+	+												108	6,95 – 7,43	
2	Tipe Rekombinan 1	+	-	+	+	+	-												9	4,77 – 7,67	
3	Tipe Rekombinan 2	+	+	+	+	+	+												5	4,78 – 6,02	
4	Tipe Rekombinan 3	+	-	+	-	+	+												7	3,74 – 5,89	
5	Tipe Tetua Peka	+	+	+	-	+	-												29	3,71 – 5,56	

Keterangan :

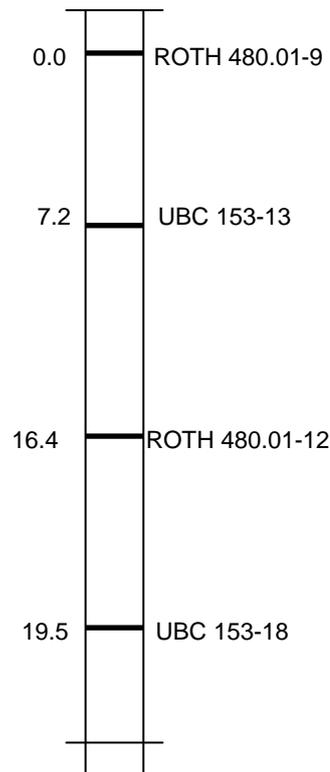
+ = ada - = tidak ada

Perkiraan ukuran pita DNA (pasangan basa) : no.urut 1) 125, 2) 560, 3) 125, 4) 560, 5) 2000, 6) 125, 7) 125, 8) 2000, 9) 2000, 10) 2300, 11) 2000, 12) 125, 13) 2000, 14) 2000, 15) 560, 16) 2000, 17) 125, 18) 125.

Kelompok Keterpautan 1



Kelompok Keterpautan 2



Gambar 2. Pemetaan kelompok keterpautan marka RAPD dari primer ROTH 480.01, ROTH 480.03 dan UBC 153 serta 9 QTL yang terdiri dari 3 QTL klorofil (QTL 1-k, QTL 2-k dan QTL 3-k), 3 QTL jumlah cabang produktif (QTL 1-c, QTL 2-c dan QTL 3-c) dan 3 QTL hasil (QTL 1-h, QTL 2-h dan QTL 3-h). QTL 1 dari karakter klorofil a, jumlah cabang produktif dan hasil terpaat dengan marka spesifik ROTH 480.03-1; QTL 2 dan QTL 3 dari ketiga karakter tersebut masing-masing terpaat dengan marka spesifik ROTH 480.03-8 dan UBC 153-19.

DAFTAR PUSTAKA

- Asadi, B, D M Arsyad, H Zahara dan Darmijati. 1997. *Pemuliaan kedelai untuk toleran naungan*. Buletin Agrobio. 1997. 1(2): 15-20.
- Blakhall, N.M., N. Hammatt, and M. R. Davey. 1993. *Analysis of variation in the DNA content of Glycine species: A flow cytometric study*. Soybean Genetics Newsletter. 1991. 18:194-200.
- Chandraratna, M. F. 1964. *Genetics of metric and physiological characters*. In: Genetics and Breeding of Rice. Tropical Science Series. Longmans, Green and Co Ltd, London. p.49-80.
- Crowder, L. V. 1993. *Genetika Tumbuhan. Terjemahan Lilik K. dan Soetarso. Cetakan ke-4*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 499 hal.
- Gresshoff, P.M. 1993. *Molecular genetic analysis of nodulation genes in soybean*. Plant Breeding Reviews. 11:275-318.
- Griffith, A. J. F., J. H. Miller, D. T. Suzuki, R. C. Lewontin and W. M. Gelhart. 1993. *An Introduction to Genetics Analysis*. Freeman and Co New York.
- Gurley, W.B., A.G. Hepburn, J.L. Key. 1979. *Sequence organization of the soybean genome*. Biochimica et Biophysica Acta. 561:167-183.
- Petr, F. C., and K. J. Frey. *Genotypic correlation, dominance, and heritability of quantitative characters in oats*. Crop. Sci. 6:259-262. 1966.
- Rafalski, A., S. Tingey. 1993. *RFLP map of soybean (Glycine max = 2n = 40)*. In: O. Brien S.J. (ed) Genetic map: Locus Maps of Complex Genomes Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor N.Y.

- Saghai-maroo, M.A., R.M. Biyashev, G.P. Yang, Q. Zhang, R.W. Allard. 1994. *Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in Barley: Species diversity, chromosomal locations, and population dynamics*. *Broc Nate Acad. Sci. USA* 91:5466-5470.
- Shoemaker, R.C., L.L. Lorenzen, B.W. Diers, and T.C. Olson. *Genome mapping and agriculture*. 1994. In: Gresshoff, P.M. (ed) *Plant Genome Analysis. Current Topics in Plant Molecular Biology*. 1994. Vol. 3, chapter 1. CRC Press. Boca Raton. Florida.
- Tingey, S.V., J.A. Rafalski, and J.G.K. Williams. 1992. *Genetics analysis with RAPD markers*, p. 3-8. In: *Application of RAPD technology to plant breeding*. Joint Plant Breeding Symposium Series, Minneapolis, Minnesota. 1 Nov. 1992. CSSA. Am.Soc. Horticul. Sci., and Am. Genet. Assoc.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J. A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. *DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary primers are useful as ganatic markers*. *Nucleic Acid Res.* 1990. 18:6531-6535.

