

# Identifikasi Marka RFLP untuk Toleransi terhadap Keracunan Besi Pada Padi di Indonesia

Sutrisno, I. H. Somantri, T. Suhartini, S. Rianawati,  
Sustiprijatno, K. R. Trijatmiko, T.J. Santosa, S. Moeljopawiro

*Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan*

## ABSTRAK

Suatu penelitian dilakukan untuk tujuan mengidentifikasi tetua-tetua padi yang menunjukkan toleran atau peka terhadap keracunan besi, mensurvei polimorfisme antara tetua-tetua toleran dan peka, mempelajari keterkaitan antara marka-RFLP dan toleransi terhadap keracunan besi. Suatu kajian lapang yang dilaksanakan di Tamanbogo, Lampung pada tanah sawah yang mengandung sekitar 175 ppm Fe, menunjukkan bahwa padi varietas Mahsuri, Batang Ombilin, BW 267-3, dan KDM 105, adalah toleran terhadap keracunan besi, sedangkan varietas IR 64 dan Sei Lilin adalah peka. Suatu survei polimorfisme antara tetua toleran (Batang Ombilin, BW 267-3, Mahsuri) dan peka (IR64 dan Sei Lilin) menggunakan kombinasi 5 enzim restriksi dan 43 klon DNA menunjukkan bahwa 42 kombinasi enzim-klon DNA menghasilkan polimorfisme antara tetua-tetua tersebut. Sedangkan survei polimorfisme antara tetua toleran (Mahsuri) dan peka (IR64) menggunakan kombinasi 5 enzim restriksi dan 43 klon DNA, menunjukkan bahwa 18 kombinasi enzim-klon DNA menghasilkan polimorfisme antara kedua tetua tersebut. Dari 86 klon DNA yang digunakan untuk hibridisasi, 23 klon DNA tidak terjadi hibridisasi dengan fragmen DNA padi hasil potongan kelima enzim restriksi yang diuji. Dari kombinasi enzim-klon DNA yang menunjukkan polimorfisme tersebut, 22 kombinasi enzim-klon DNA digunakan untuk kajian keterpautan pada 24 individu F<sub>2</sub> hasil silangan Mahsuri/IR64. Hasil kajian keterpautan tersebut menunjukkan bahwa 4 kombinasi, yaitu R202-EcoRV, RZ144-HindIII, RZ450-PstI, dan RZ721-PstI berpeluang besar untuk terpaut dengan gen toleransi terhadap keracunan besi pada varietas Mahsuri. Kajian keterpautan perlu dilanjutkan dengan menggunakan individu F<sub>2</sub> yang lebih banyak dan kombinasi enzim-klon DNA yang lain.

**Kata kunci:** Marka RFLP, keracunan besi, padi

## ABSTRACT

Experiments were carried out to identify parents of rice that shows tolerance or susceptible to iron toxicity, to survey polymorphism between tolerance and susceptible parents, and to study the linkage between RFLP markers and tolerance to iron toxicity. Results of field study, carried out at Tamanbogo, Lampung on lowland area contained 175 ppm Fe, revealed that rice cultivar of Mahsuri, Batang Ombilin, BW 267-3, dan KDM 105, showed tolerance to iron toxicity, while cultivar of IR64 and Sei Lilin showed susceptible. A survey of polymorphisme between tolerance parents (Batang Ombilin, BW 267-3, Mahsuri) and susceptible one (IR64 dan Sei Lilin) using combination of 5 restriction enzim and 43 clon DNA indicated that 42 combinations of enzim-clone DNA yielded polymorphism among these parents. In other polymorphism survey between tolerance (Mahsuri) and susceptible parent (IR64) using combination of 5 restriction enzim and 43 clones DNA, revealed that 18 combination of enzim DNA clone yielded polymorphism between the two parents. Out of 86 clones DNA tested in hybridization, 23 clon DNA hybridized with DNA frag-

mens of rice. From the combination of enzim-clon DNA showed polymorphism, 22 combinations was used in linkage study on 24 individues of F2 crossed between Mahsuri and IR64. Results of linkage study indicated that 4 combinations, namely R202-EcoRV, RZ144-HindIII, RZ450-PstI, and RZ721-PstI showed a high probability to link with genes tolerance to iron toxicity on cultivar of Mahsuri. Further study is needed to determine clone DNA which is tightly linked with tolerance genes to iron toxicity.

**Key words:** RFLP marker, iron toxicity, rice.

## PENDAHULUAN

Apabila DNA genom padi dipotong-potong dengan enzim restriksi, maka DNA itu akan terpotong pada tempat restriksi (pada urutan tertentu DNA). Jika dua tetua padi berbeda satu nukleotida saja pada tempat restriksi, maka enzim restriksi akan memotong DNA tetua padi yang satu tetapi tidak yang lain. Dengan demikian kerja enzim restriksi akan menghasilkan fragmen restriksi (fragmen DNA) yang berbeda-beda panjangnya, yang kemudian disebut polimorfisme panjang fragmen restriksi (*restriction fragmen length polymorphism*) atau disingkat RFLP. RFLP ini dapat digunakan sebagai marka DNA. Marka DNA ini dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan, antara lain untuk membantu dalam seleksi progeni hasil silangan, pemetaan gen-gen, dan pengklonan gen-gen.

Lebih dari 600 marka RFLP telah disusun pada suatu peta molekuler (McCouch *et al.*, 1988; Tanksley *et al.*, 1992). Ishii *et al.* (1993) menunjukkan bahwa marka RFLP RG457 terpaut dengan gen ketahanan terhadap wereng batang coklat, sedangkan CDO98 terpaut dengan gen pembungaan awal. Namun demikian, sampai sekarang belum diketahui marka RFLP yang terkait erat dengan gen-gen toleransi terhadap keracunan besi. Padahal marka RFLP tersebut akan bermanfaat dalam upaya pemuliaan padi untuk memperoleh varietas padi yang toleran terhadap keracunan besi.

Marka RFLP tersebut dapat diperoleh dengan cara menyaring klon-klon DNA yang telah tersedia. Dewasa ini telah tersedia ratusan klon-klon DNA padi yang merupakan potongan-potongan dari kromosom satu sampai dengan 12 (Tanksley *et al.*, 1992). Apabila klon DNA tersebut dapat ditemukan, maka akan tersedia marka RFLP yang dapat membantu dalam seleksi progeni yang mengandung gen toleransi terhadap keracunan besi, memetakan gen toleransi keracunan besi, dan mengisolasi dan mengklonkan gen toleransi keracunan besi.

Hasil penelitian bioteknologi tersebut akan mendukung program perbaikan padi, khususnya padi toleran keracunan besi. Apabila varietas toleran keracunan besi dapat ditemukan, maka lahan bermasalah keracunan besi seluas satu juta hektar yang tersebar di lahan pasang surut, lahan sawah berdrainase buruk, dan lahan bukaan baru (Ismunadji, 1990) dapat dijadikan tempat produksi padi.

Laporan ini mengemukakan hasil identifikasi marka RFLP yang terpaut erat dengan gen keracunan besi pada padi selama tahun anggaran 1995/96 dan 1996/97.

## BAHAN DAN METODE

### Material Tanaman

Penelitian ini menggunakan beberapa tetua toleran dan peka serta F1 dan F2 hasil silangan tetua Mahsuri (toleran) dan IR64 (peka). Tetua toleran dan peka tersebut dipilih berdasarkan hasil pengujian di Tamanbogo, Lampung yang lahannya mengandung besi sekitar 175 ppm.

Tetua toleran dan peka, serta F1 ditanam pada tanah dalam pot. Setelah tanaman berumur satu bulan, daun padi dipanen untuk diisolasi DNA-nya. Populasi F2 ditanam di lapang (Tamanbogo). Setelah tanaman populasi F2 berumur satu bulan, individu tanaman itu diamati gejala keracunan besinya dengan metode skoring (IRRI, 1988). Pada waktu yang bersamaan, sampel daun padi F2 diambil dan dibawa ke laboratorium untuk diekstrak DNA-nya.

### Isolasi DNA

Total DNA genom tetua toleran, peka, F1 dan populasi F2 diisolasi dari daun menggunakan metode Dellaporta *et al.* (1983).

### Analisis RFLP

Lima enzim restriksi, yaitu EcoRI, EcoRV, HindIII, PstI, dan XbaI dipakai untuk *Southern-based* RFLP. Sebanyak 86 klon DNA yang terletak pada kromosom satu sampai dengan 12 yang diperoleh dari Dr. S.R. McCouch, Cornell University, Ithaca, New York digunakan dalam survei polimorfisme. Nama klon DNA, ukuran pasangan basa, dan letaknya pada kromosom dapat dilihat pada Tabel 1. Tetua-tetua yang digunakan dalam survei polimorfisme adalah Mahsuri, Batang Ombilin, BW267-3, Sei Lilin, dan IR64.

Lima enzim restriksi tersebut, tetua Mahsuri dan IR64, serta F1 dan F2 silangannya, digunakan dalam studi keterpautan. Sebanyak 22 klon DNA yang telah terbukti menunjukkan adanya polimorfisme antara tetua Mahsuri dan IR64 digunakan untuk studi keterkaitan tersebut.

DNA (5-10  $\mu$ g) dipotong-potong dengan masing-masing enzim restriksi, kemudian dielektroforesis semalam dengan voltase 20 V, pada 1,0% gel agarose dengan bufer TBE. Fragmen DNA ditransfer ke membran nilon, kemudian dihibridisasi dengan klon DNA yang telah dilabel dengan pelabel nonradioaktif, yaitu digoxigenin-dUTP. Signal dideteksi dengan khemiluminesen, yaitu Lumiphos atau CSPD, menggunakan metode deteksi seperti yang dilakukan oleh Panaud *et al.* (1993).

**Tabel 1.** Daftar klon DNA yang diidentifikasi keterpautannya dengan gen-gen toleransi keracunan besi. Balitbio 1995-1997.

No.	Klon DNA	Ukuran (kb)	No. chr.	No	Klon DNA	Ukuran (kb)	No. chr.
1	RG 16	0,8	11	44	RZ 242	0,6	6
2	RG 365	1,5	2	45	RG 556	1,5	7,5
3	RG190	1,4	12	46	RZ 393	0,9	3
4	RG 396	1,3	12	47	RG 28	0,9	8
5	RG 136	1,4	10	48	RZ 144	1,5	6
6	RG139	1,2	2	49	CDO 54	1,9	1
7	RG 304	0,9	11	50	RZ 450	1,3	6
8	RG 2	1,5	11	51	RZ 67	0,5	5
9	RZ 776	0,7	1	52	RZ 66	1,7	8
10	RZ 562	1,2	8	53	RZ 422	2,4	9
11	RZ 69	0,9	4	54	RZ 452	0,5	3
12	RZ 744	1,3	1	55	RZ 206	0,6	9
13	RG 171	0,7	2	56	RZ 288	0,9	1
14	RG 272	1,0	7	57	RZ 721	4,1	7
15	RG 144	0,8	2	58	RZ 816	0,6	12
16	RG 181	1,4	12	59	RG 617		
17	RG 351	0,8	7	60	RG 543	0,7	12
18	RG236	0,4	1	61	RG 788	1,1	4
19	RG450	1,2	3	62	RZ 566	0,6	1
20	RZ 103	0,6	2	63	RZ 556	0,7	5
21	RZ 284	1,8	3	64	RZ 337	1,4	10
22	RG 457	1,2	12	65	RZ 421	0,9	10
23	RZ 717	1,0	4	66	RZ 588	1,0	6
24	RZ 797	3,0	11	67	RZ 730	0,7	1
25	RZ 296	2,8	5	68	RZ 740	0,9	4
26	R 188	1,8	5	69	RZ 753	1,3	7
27	R 476	1,3	1	70	RZ 244	0,7	5
28	R 521	1,0	5	71	RZ 561	0,7	10
29	R 321	0,9	3	72	RZ 397	0,5	12
30	R 887	1,0	12	73	RZ 337	1,4	10
31	CDO 365	1,2	11	74	RG 64	1,5	6
32	CDO 17	0,9	6	75	RG 73	0,9	2
33	RZ 879	1,4	4	76	RG 445	1,3	6
34	RZ 612	0,7	6	77	RG 462	1,6	1
35	RZ 989	1,4	7	78	RG 697	2,1	5
36	RG 456	1,2	6	79	RG 752	1,6	10
37	RG 329	1,3	4	80	RG 213	1,3	6
38	RZ 182	0,7	5	81	RG 811	1,0	1
39	R 202	1,3	8	82	RG 1109	0,9	11
40	R 374	0,8	4	83	RG 91	2,2	4
41	R 37	0,5	1	84	RG 122	0,4	4
42	R 265A	0,7	3	85	RG 207	1,7	5
43	R 111	1,0	6	86	RG 138	1,2	6

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah DNA tetua-tetua Mahsuri; Batang Ombilin, BW 267-3, Sei Lilin, atau IR64 dipotong-potong dengan enzim restriksi EcoRI, EcoRV, HindIII, PstI, atau XbaI, kemudian dihibridisasi dengan 86 klon DNA, ternyata bahwa 63 klon DNA terjadi hibridisasi, sedangkan 23 klon DNA tidak terjadi hibridisasi dengan DNA tetua-tetua tersebut. Tidak terjadinya hibridisasi tersebut dapat disebabkan oleh beberapa hal, antara lain fragmen DNA padi yang diuji tidak ada yang homolog dengan klon DNA, dan kemungkinan lain adalah terjadi hibridisasi tetapi signal terlalu lemah sehingga signal tidak terdeteksi. Analisis RFLP dengan metode deteksi signal yang lebih sensitif, misalnya dengan zat radioaktif, akan dapat menunjukkan penyebab tidak terjadinya hibridisasi ke-23 klon DNA tersebut.

Fragmen DNA padi hasil potongan lima enzim restriksi dan yang terjadi hibridisasi dengan 63 klon DNA yang dihasilkan dari penelitian ini kemudian dirinci jumlah fragmen, ukuran pasangan basa fragmen, dan ada/tidaknya fragmen tersebut pada populasi tanaman yang diuji. Perincian tersebut menghasilkan informasi tentang adanya polimorfisme antara tetua-tetua yang diuji (Tabel 2).

Banyaknya kombinasi klon DNA-enzim yang menunjukkan polimorfisme antara Mahsuri dan Sei Lilin, Batang Ombilin dan Sei Lilin, BW267-3 dan Sei Lilin, Mahsuri dan IR64, Batang Ombilin dan IR64, dan BW267-3 dan IR64 berturut-turut adalah 38, 20, 23, 58, 8, dan 8 kombinasi. Kombinasi klon DNA-enzim yang menghasilkan fragmen restriksi polimorfis tersebut untuk selanjutnya akan digunakan dalam studi keterpautan marka RFLP dengan gen toleransi keracunan besi.

Pada penelitian ini, tetua-tetua yang dipilih untuk studi keterpautan adalah Mahsuri dan IR64. Pilihan tersebut mendasarkan pada pertimbangan bahwa kedua tetua tersebut menunjukkan perbedaan yang jelas dalam responnya terhadap keracunan besi.

Dari 58 kombinasi klon DNA-enzim yang menunjukkan polimorfisme antara tetua Mahsuri dan IR64, kemudian dipilih 22 kombinasi untuk studi keterpautan pada populasi F<sub>2</sub>. Studi keterpautan tersebut diawali dengan analisis RFLP terhadap 24 individu F<sub>2</sub> yang terdiri dari individu yang memiliki skor keracunan besi 3, 5, dan 7. Dengan asumsi bahwa skor 3, 5, dan 7 berturut-turut adalah individu yang homozigos toleran, heterozigos, dan homozogos peka terhadap keracunan besi.

Hasil analisis RFLP F<sub>2</sub> tersebut disusun dalam bentuk matrik seperti yang tercantum pada Tabel 3. Studi keterpautan pendahuluan ini dimaksudkan untuk memilih kombinasi klon DNA-enzim yang memberikan peluang besar terpaut dengan gen toleransi keracunan besi. Kombinasi klon DNA-enzim yang memberikan peluang besar tersebut untuk selanjutnya akan diujikan pada lebih dari 100 individu F<sub>2</sub>.

Pemilihan kombinasi klon DNA-enzim tersebut mendasarkan pada pola distribusi genotipe 11 (homozigos toleran), genotipe 12 (heterozigos), genotipe 22 (homozigos

peka) pada individu F2 yang memiliki skor keracunan besi 3, 5, dan 7. Sebagai pegangan sementara, kombinasi klon DNA-enzim yang berpeluang besar adalah yang memenuhi kriteria (1) apabila genotipe 11 banyak dijumpai pada individu yang memiliki skor 3, tetapi tidak/hampir tidak ada pada individu yang memiliki skor 7, dan (2) apabila genotipe 22 banyak dijumpai pada individu yang memiliki skor 7, tetapi tidak/hampir tidak ada pada individu yang memiliki skor 3.

Dari 22 kombinasi klon DNA-enzim yang dianalisis, ternyata bahwa hanya empat kombinasi yang mempunyai peluang besar untuk diuji selanjutnya. Kombinasi tersebut adalah R 202-EcoRV, RZ 144-Hind III, RZ 450-PstI, dan RZ 721-PstI (Tabel 3). Mengingat bahwa kombinasi klon DNA-enzim yang diidentifikasi berpeluang terpaut dengan gen toleransi keracunan besi hanya ada empat kombinasi, sedangkan studi genetik mengindikasikan bahwa gen toleransi keracunan besi adalah poligenik, maka perlu penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan kombinasi klon DNA-enzim yang memadai. Kombinasi klon DNA-enzim tersebut akan sangat bermanfaat dalam analisis QTL di kelak kemudian hari.

**Tabel 2.** Kombinasi prob-enzim yang menunjukkan polimorfisme antara varietas toleran dan peka terhadap keracunan besi.

No	Tetua toleran dan peka	Kombinasi prob-enzim yang menunjukkan polimorfisme			
1	Mahsuri/ Sei Lilin	RZ 450-Xbal	RZ 450-PstI	CDO 54-Xbal	RZ 144-EcoRI
		RZ 556-EcoRV	RZ 66-Xbal	RZ 422-EcoRV	RZ 721-PstI
		RZ 242-EcoRV	RG 556-EcoRV	RZ 206-Xbal	RZ 206-EcoRI
		RZ 206-HindIII	RZ 288-EcoRV	RZ 721-Xbal	RZ 721-PstI
		RG 617-EcoRV	RG 617-Xbal	RG 617-EcoRI	RG 617-HindIII
		RG 617-PstI	RG 543-EcoRV	RG 543-Xbal,	RG 543-EcoRI
		RG 543-HindIII	RG 788-EcoRV	RG 788-Xbal	RG 788-EcoRI
		RG 788-HindIII	RG 788-PstI	RZ 566-EcoRV	RZ 566-PstI
		RZ 556-EcoRV	RZ 556-Xbal	RZ 556-EcoRI	RZ 556-HindIII
		RZ 556-PstI			
2	Batang Ombilin/ Sei Lilin	RZ 450-Xbal	RZ 450-PstI	RZ 144-Xbal	RZ 66-Xbal
		RZ 66-PstI	RZ 422-EcoRV	RZ 452-PstI	RZ 206-Xbal
		RZ 206-EcoRI,	RZ 206-HindIII	RZ 721-EcoRV	RZ 721-Xbal
		RZ 721-PstI RG 543-EcoRI	RZ 816-EcoRV RG 543-Hind III	RG 543-EcoRV RZ 566-EcoRV	RG 543-Xbal, RZ 566-PstI
3	BW267-3 /Sei Lilin	RZ 450-Xbal	RZ 450-PstI	RZ 144-EcoRI	RZ 144-HindIII
		RG 28-EcoRV	RZ 242-EcoRV	RG 556-EcoRV	RZ 66-Xbal
		RZ 206-Xbal	RZ 206-EcoRI	RZ 206-HindIII	RZ 288-EcoRV
		RZ 721-EcoRV	RZ 721-Xbal	RZ 721-PstI	RZ 816-Xbal
		RZ 816-EcoRI RZ 566-EcoRV	RZ 816-PstI RZ 566-EcoRI	RG 543-EcoRV RZ 566-HindIII	RG 543-Hind III
4	Mahsuri/ IR64	RZ 450-EcoRV	RZ 450-Xbal	RZ 450-PstI	CDO 54-Xbal
		RZ 144-Xbal	RZ 144-EcoRI	RZ 144-HindIII	RZ 556-EcoRV
		RZ 66-PstI	RG 136-Xbal	RG 171-EcoRV	RG144-Xbal
		RG 351-EcoRV	RG 351-EcoRI	RG 236-HindIII	RG 450-EcoRV
		RG 450-Xbal	RG 103-EcoRI	RZ 284-HindIII	RZ 717-Xbal
		RZ 717-PstI	R 188-EcoRV	R 887-HindIII	R 887-PstI
		RZ 612-EcoRI	RZ 989-HindIII	R 202-EcoRI	R 111-Xbal
		RZ 242-EcoRV	RG 556-EcoRV	RZ 66-Xbal	RZ 452-PstI
		RZ 206-EcoRI	RZ 288-EcoRV	RZ 721-EcoRV	RZ 721-Xbal
		RZ 721-PstI	RG 617-EcoRV	RG 617-Xbal	RG 617-EcoRI
		RG 617-HindIII	RG 617-PstI	RG 543-EcoRV	RG 543-Xbal
		RG 543-EcoRI	RG 543-HindIII,	RG 788-EcoRV	RG 788-Xbal
		RG 788-EcoRI	RG 788-HindIII	RG 788-PstI	RZ 566-EcoRV
		RZ 566-PstI	RZ 556-EcoRV	RZ 556-Xba	RZ 566-EcoRI
RZ 566-HindIII	RZ 556-PstI				
5	Bat. Ombilin/ IR64	RZ 450-EcoRV	RZ 450-Xbal	RZ 450-PstI	CDO 54-Xbal
		RZ 144-EcoRI	RZ 144-HindIII	RZ 66-Xbal	RG 136-Xbal
6	BW267-3 /IR64	RZ 450-EcoRV	RZ 450-Xbal	RZ 450-PstI	CDO 54-Xbal
		RZ 144-Xbal	RZ 144-HindIII	RG 28-EcoRV	RZ 66-Xbal

**Tabel 3.** Kosegregasi marka RFLP dan toleransi terhadap keracunan besi pada F2 hasil silangan Mahsuri (toleran) and IR64 (peka).

Genotipe	Banyaknya tanaman dengan reaksi terhadap keracunan besi <sup>b</sup>			Total
	Toleran (RR, Skor 3)	Toleran (RS, Skor 5)	Peka (SS, Skor 7)	
RZ 422 (EcoRV)				
11 <sup>a</sup>	2	2	2	6
12	3	4	0	7
22	3	2	6	11
RZ 450 (Xbal)				
11	5	1	4	10
12	-	-	-	-
22	3	7	4	14
RZ 721 (EcoRV)				
11	8	8	8	24
12	0	0	0	0
22	0	0	0	0
RG 556 (EcoRV)				
11	2	4	2	8
12	5	3	2	10
22	1	1	4	6
RG 236 (HindIII)				
11	3	4	3	10
12	2	4	2	8
22	3	0	3	6
RG 171 (Xbal)				
11	1	4	1	6
12	7	1	5	13
22	0	3	2	5
R 202 (EcoRV)				
11	8	4	1	13
12	0	2	5	7
22	0	2	2	4
RG 136 (Xbal)				
11	2	2	2	6
12	-	-	-	-
22	6	6	6	18
RZ 144 (HindIII)				
11	7	0	1	8
12	0	8	1	9
22	1	0	6	7
RZ 450 (PstI)				
11	5	2	2	9
12	3	6	4	13
22	0	0	2	2
R 111 (PstI)				
11	2	1	4	7
12	6	5	4	15
22	0	2	0	2
R202 (HindIII)				
11	0	1	3	4
12	7	5	1	13
22	1	2	4	7

Tabel 3. (lanjutan).

Genotipe	Banyaknya tanaman dengan reaksi terhadap keracunan besi <sup>b</sup>			Total
	Toleran (RR, Skor 3)	Toleran (RS, Skor 5)	Peka (SS, Skor 7)	
RG 543 (EcoRV)				
11	1	1	4	6
12	6	5	2	13
22	1	1	2	4
RZ 816 (Xbal)				
11	3	2	1	6
12	-	-	-	-
22	5	6	7	18
RZ 612 (EcoRI)				
11	0	0	3	3
12	8	6	4	18
22	0	2	1	3
RG 351 (EcoRV)				
11	0	0	5	5
12	3	3	2	8
22	5	5	1	11
RG351 (EcoRI)				
11	1	0	3	4
12	6	7	3	16
22	1	1	2	4
RG 171 (EcoRI)				
11	1	4	7	12
12	4	4	1	9
22	3	0	0	3
RG 543 (HindIII)				
11	7	6	7	20
12	-	-	-	-
22	1	2	1	4
RG 543 (Xbal)				
11	0	0	0	0
12	7	4	4	15
22	1	4	4	9
RG 450 (EcoRV)				
11	4	0	0	4
12	3	4	7	14
22	1	4	1	6
RZ 721 (PstI)				
11	4	2	0	6
12	4	6	6	16
22	0	0	2	2

<sup>a</sup>1= alel dari Mahsuri; 2= alel dari IR 64

<sup>b</sup>Ditetapkan berdasarkan pada reaksi populasi F2 terhadap keracunan besi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Dr. Susan R. McCouch yang telah memberikan klon DNA. Penelitian ini dibiayai terutama dari Proyek Riset Unggulan Terpadu, No. 3207/SP-KD/PPIT/IV/95.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dellaporta, S.L., J. Wood, and J.B. Hick. 1983.** A plant DNA minipreparation: version II. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1: 19-21.
- International Rice Research Institute. 1988.** Standard evaluation system for rice. IRRI, Los Banos, Philippines. 54p.
- Ishii, T., D.S. Brar, D.S. Multani, and G.S. Khush. 1993.** Molecular tagging of genes for brown planthopper resistance and earliness introgressed from *Oryza australiensis* into cultivated rice, *O. sativa*. *Genome*. Vol.37: 217-221.
- Ismunadji, M. 1990.** Allevating iron toxicity in lowland rice. *Indonesian Agric. Res. and Develop. Jour.* 12(4): 67-72.
- McCouch, S.R. and G. Kochert, Z.H. Yu, Z.Y. Wang, G.S. Khush, W.R. Coffman, and S.D. Tanksley. 1988.** Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 76: 815-829.
- Panaud O., G. Magpantay, and S.R. McCouch. 1993.** A protocol for non-radioactive DNA labelling and detection in the RFLP analysis of rice and tomatoes using single copy probes. *Plant Mol. Biol.* 11(1).
- Tanksley, S., M. Causee, T. Fulton, N. Ahn, Z. Wang, K. Wu, J. Xiao, Z. Yu, G. Second, and S. McCouch. 1992.** A high density molecular map of the rice genome. *Rice Genet. Newsl.* 9: 111-115.