

Potensi Padi Bukit sebagai Alternatif kepada Padi Sawah

Zaidah Rahmat^{a*}, Alina Wagiran^a, Nurain Mohd Nazir^a, Shahkila Mohd Arif^a, Siti Nur Ain Zulkifli^b, Azman Abd Samad^a, Mohd Shahir Shamsir^b, Faezah Mohd Salleh^a, Mohamad Roji Sarmidi^c

^aDepartment of Biotechnology and Medical Engineering, Faculty of Biosciences and Medical Engineering, Universiti Teknologi Malaysia, 81310 UTM Johor Bahru, Johor, Malaysia

^bDepartment of Biosciences and Health Sciences, Faculty of Biosciences and Medical Engineering, Universiti Teknologi Malaysia, 81310 UTM Johor Bahru, Johor, Malaysia

^cBiotechnology Research Alliance, Universiti Teknologi Malaysia, 81310 UTM Johor Bahru, Johor, Malaysia

*Corresponding author: zaidahrahmat@utm.my

Article history

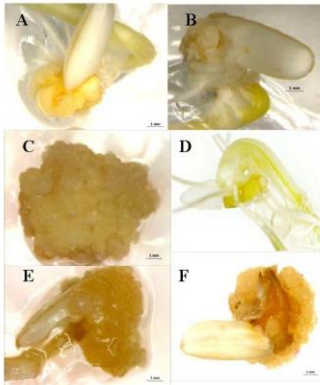
Received :28 July 2014

Received in revised form :

11 September 2014

Accepted :16 September 2014

Graphical abstract



Abstract

Our country imported rice to sustain demand from the public. In Malaysia 2 types of rice are grown; wetland rice which is widely cultivated while upland rice is cultivated on a smaller scale mostly by farmers in Sabah and Sarawak. Through plant biotechnology, micropropagation method via tissue culture and quantitative breeding traits are able to contribute to research on upland rice in Malaysia. Prior to the establishment of efficient *in vitro* propagation of upland rice, study on embryogenic callus induction is crucial. Our findings showed that NAA was not suitable for callus induction. Nevertheless, the highest callus induction was observed when cultivars Wai (75%) and Panderas (90%) were cultured on MSB₅ media supplemented with 2 mg/L 2,4-D. Furthermore, addition of 20 g/L sorbitol had increased callus induction of 70% and 80% for Wai and Panderas, respectively. In other assessment, comparative study on *ex vitro* quantitative breeding trait showed that the height of plants without any fertilizer treatment were higher than commercial EM-treated plant. Rice plant treated with EM commercial soil had the shortest height and eventually died. However, rice planted with commercial EM produced the highest number of grains per panicle, shorter maturity period as compared to control.

Keywords: Upland rice; embryogenic callus; quantitative breeding trait; effective microorganism

Abstrak

Malaysia mengimport sebahagian keperluan beras Negara bagi menampung permintaan beras yang tinggi. Padi sawah ditanam secara meluas di Semenanjung Malaysia manakala padi bukit ditanam secara kecil-kecilan oleh kebanyakannya petani di Sabah dan Sarawak. Pendekatan bioteknologi tanaman, khususnya kaedah pembiakan mikro kultur tisu dan sifat pembiakan baka kuantitatif mampu menyumbang kepada penyelidikan padi bukit di Malaysia. Sebelum kaedah pembiakan *in vitro* padi bukit yang efisien dapat dibangunkan, kajian penginduksian kalus embriogeni adalah sangat penting. Dalam kajian ini NAA didapati tidak sesuai dalam menginduksi kalus padi. Sejumlah 75% penginduksian kalus dicerap bagi kultivar Wai manakala 90% bagi kultivar Panderas pada media MSB₅ yang ditambah 2 mg/L 2,4-D. Penambahan 20 g/L sorbitol Berjaya meningkatkan pertumbuhan kalus untuk kultivar Wai dan Panderas masing-masing sebanyak 70% dan 80%. Kajian perbandingan sifat pembiakan baka kuantitatif *ex vitro* mendapati semua jenis padi mempunyai ketinggian paling tinggi bagi tanpa rawatan berbanding dengan rawatan baja komersil EM (mikroorganisma efektif). Padi yang ditanam menggunakan baja tanah komersil EM mempunyai ketinggian paling rendah dan akhirnya mati. Namun begitu, hasil padi menggunakan baja komersil EM mencatatkan jumlah biji benih tertinggi serta mencapai hari matang yang lebih awal berbanding rawatan tanpa baja.

Kata kunci: Padi bukit; kalus embriogeni; sifat pembiakan kuantitatif; mikroorganisma efektif

© 2014 Penerbit UTM Press. All rights reserved.

1.0 PENGENALAN

Penggunaan beras untuk pemakanan meningkat setiap tahun disebabkan oleh gaya hidup dan pertumbuhan penduduk di Malaysia. Ini menyebabkan negara mengimport beras daripada luar untuk menampung permintaan orang ramai. Terdapat 2

jenis padi yang ditanam di Malaysia iaitu padi sawah yang ditanam secara meluas manakala padi bukit ditanam secara kecil-kecilan oleh petani kebanyakannya di Sabah dan Sarawak. Padi bukit mempunyai ciri-ciri yang istimewa dari segi bau, warna, saiz dan bentuk. Walau bagaimanapun pun padi bukit memberikan hasil tuai yang rendah (Hanafi *et al.*, 2009, Sohrabi

et al., 2012) tetapi kebolehannya untuk hidup dalam kawasan tanpa air menjadikannya pilihan alternatif kepada penanaman padi sawah. Melalui bioteknologi tanaman, kaedah pembiakan mikro melalui kultur tisu mampu menyumbang kepada penyelidikan dan sifat pembiakan baka padi bukit di Malaysia. Sebelum kaedah pembiakan *in vitro* padi bukit yang efisien dapat dibangunkan, kajian penginduksian kalus yang embriogeni adalah sangat penting. Kajian tentang penginduksian kalus dan sifat pembiakan baka kuantitatif *ex vitro* bagi padi bukit adalah kurang diperolehi. Oleh itu kajian penginduksian kalus dan kajian awal sifat pembiakan kuantitatif *ex vitro* yang dijalankan diharap dapat memberikan maklumat berguna untuk eksplorasi padi bukit sebagai alternatif kepada padi sawah.

2.0 BAHAN DAN KAEDAH

2.1 Proses Pensterilan Biji Benih dan Induksi Kalus Embriogeni

Sampel biji benih matang padi bukit Wai dan Panderas masing-masing diperolehi dari Sibul, Sarawak dan Kampung Panderas, Jerantut, Pahang. Biji benih yang telah dibuang kulitnya seterusnya disterilkan mengikut kaedah piawai. Untuk penginduksian kalus embriogeni, biji benih yang steril diletakkan secara mendatar di atas permukaan media pepejal MSB5 (Shahsavari, 2009) yang ditambah dengan kepekatan NAA berbeza (1 mg/L, 2 mg/L dan 5 mg/L) atau 2,4-D (1 mg/L, 2 mg/L dan 3 mg/L) manakala kawalan adalah media MSB5 tanpa hormon. Bagi rawatan sorbitol, media pepejal MSB5 ditambah dengan sorbitol yang berbeza kepekatannya iaitu 10 g/L, 20 g/L dan 30 g/L manakala tanpa sorbitol sebagai kawalan. Media asas MS yang digunakan adalah mengikut Murashige & Skoog (1962). Kesemua piring petri dieram dalam keadaan gelap selama 4 minggu. Setiap rawatan terdiri daripada 10 sampel dengan 3 replikasi dan eksperimen diulang dua kali. Di akhir kajian, morfologi dan warna kalus dicatatkan dan peratus pertumbuhan kalus yang embriogeni dikira.

2.2 Sifat Pembiakan Kuantitatif

Sampel padi bukit Wai digunakan dalam ujikaji di mana ia direndam di dalam air suling selama 2 hari dan kemudian ditanam di dalam campuran tanah hitam dan kompos dalam nisbah 3:1. Tiga jenis rawatan dijalankan iaitu tanah tanpa baja, baja komersil EM (mikroorganisma efektif) dan tanah komersil yg mengandungi baja EM. Rawatan menggunakan baja komersil EM dilakukan sekali bagi setiap 6 bulan. Kesemua jenis tanaman disiram 2 hari sekali dan pemerhatian dibuat setiap minggu dengan mencatatkan jenis-jenis sifat kuantitatif berikut; ketinggian pokok, hari sehingga berbunga, hari sehingga matang, ratio panjang ke lebar daun bendera, jumlah tiller per hill, jumlah panikel per hill, panjang panikel, jumlah bijirin per panikel, spikelet per panikel dan kesuburan spikelet.

3.0 HASIL DAN PERBINCANGAN

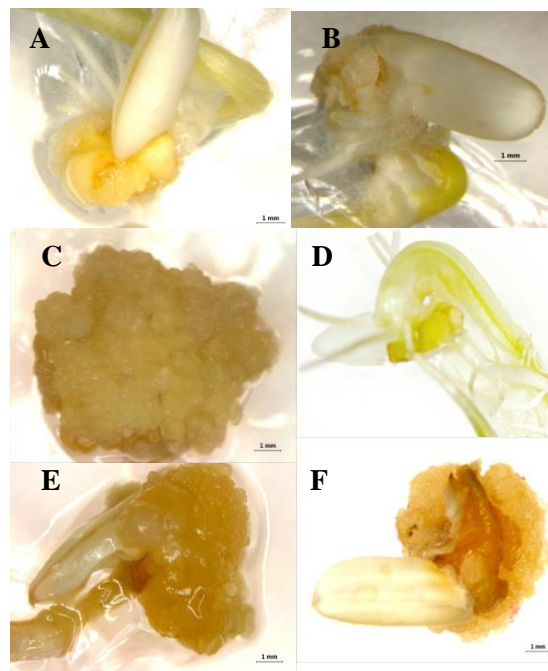
3.1 Penginduksian Kalus Embriogeni

Kajian menunjukkan bahawa penginduksian kalus tidak embriogeni yang berwarna putih dicerap selepas 12 hari dikultur diatas media MSB5 yang mengandungi NAA (1, 2 dan 5 mg/L) (Rajah 1A dan B). Berdasarkan Jadual 1, kultivar Panderas menunjukkan peratus tertinggi dalam pembentukan kalus embriogeni (90%) diikuti 87% dan 80% apabila dikultur di atas

media MSB5 yang mengandungi 1,2 dan 3 mg/L 2,4-D masing-masing. Pembentukan kalus embriogeni bagi kultivar Wai adalah 2mg/L 2,4-D (75%). Kedua-dua kultivar menunjukkan kalus embriogeni berwarna putih kekuningan. Penggunaan sorbitol menunjukkan kesan penginduksian kalus yang berbeza. Peratus penginduksian kalus tertinggi (70%) dicerap apabila eksplan dari kultivar Wai dikultur di atas media MSB5 yang mengandungi 20g/L sorbitol manakala 80% bagi kultivar Panderas bagi rawatan 10g/L dan 20g/L sorbitol selepas 2 minggu dikultur. Kedua-dua kultivar menghasilkan kalus embriogeni.

Jadual 1 Kesan hormon 2,4-D dan sorbitol ke atas penginduksian kalus padi bukit Wai dan Panderas

Kepekatan hormon 2,4-D (mg/L)	Peratus induksi kalus		Kepekatan sorbitol (g/L)	Peratus induksi kalus (%)	
	Wai	Panderas		Wai	Panderas
0	0	0	0	0	0
1	70	87	10	70	80
2	75	90	20	70	80
3	70	80	30	60	77



Rajah 1 Morfologi kalus padi bukit kultivar Wai (A) dan Pandera (B) apabila dikulturkan di atas media MSB5 yang mengandungi NAA. Morfologi kalus kultivar di atas MSB5 10g/L sorbitol bagi Wai (C) dan (D) kawalan manakala kultivar Panderas (E) media optimal dan (F) kawalan

Penginduksian kalus padi yang embriogeni dan penyelenggaraan kebiasaannya menggunakan hormon 2, 4-D (Lin & Zhang 2005; Ozawa et al. 2003). Sungguhpun begitu, kombinasi 2,4-D dan kinetin dilaporkan lebih berkesan dalam penginduksian kalus embriogeni berbanding 2,4-D (Wang et al. 2004). Dalam kajian ini, penggunaan NAA didapati tidak sesuai untuk pertumbuhan kalus embriogeni kerana pertumbuhan akar dan kalus mengecut selepas 12 hari. Kajian seterusnya dilakukan dengan menggunakan kepekatan 2,4-D berbeza bagi penginduksian kalus padi bukit kultivar Wai dan Panderas. Dalam kajian ini, 2,4-D adalah kritikal untuk pembentukan kalus embriogeni yang mana tiada kalus terhasil apabila dikultur

atas media MSB5 tanpa hormon. Peratus tertinggi pembentukan kalus embriogeni bagi Wai adalah 75% dan 90% bagi kultivar Panderas dengan 2 mg/L 2,4-D. Penggunaan 3 mg/L 2,4-D menyebabkan penurunan peratus induksi kultivar Wai dan Panderas kepada 70% dan 80% masing-masing. Shahsavari (2009) juga menggunakan kepekatan 2 mg/L 2,4-D untuk penginduksian kalus embriogeni kultivar Kusan, Lamsan, Selasi dan Siam bagi membangunkan sistem regenerasi. Penggunaan sorbitol juga telah dilaporkan meningkat kalus induksi dan sekali gus pertumbuhan semula pokok padi (Geng *et al.*, 2008). Walaupun begitu, tindak pelbagai kultivar padi bukit Malaysia ke atas sorbitol belum diselidiki dengan mendalam. Kajian terdahulu menunjukkan 4 jenis kultivar padi bukit Malaysia (Kusan, Lamsan, Selasi dan Siam) memberi tindakbalas berbeza mengikut kultivar apabila sorbitol ditambah ke dalam media pengkulturan (Shahsavari, 2009). Kajian menunjukkan kalus induksi dilihat dalam kultivar Panderas dengan 80% dan 70% bagi kultivar Wai menggunakan 20g/L sorbitol berbanding kawalan manakala peningkatan sorbitol menunjukkan penurunan 10% induksi kalus. Keputusan yang diperolehi ini berbeza dari keputusan Shahsavari, (2009) yang melaporkan kepekatan optimum sorbitol yang digunakan adalah lebih rendah iaitu 10g/L dengan peratus antara 64% ke 89% dan berbeza mengikut kultivar. Berdasarkan pemerhatian ini, penambahan sorbitol dalam media juga boleh menginduksikan kalus diantara 70% hingga 80% bagi kultivar Wai dan Panderas tetapi menyebabkan penurunan peratus (10%) jika dibandingkan dengan penggunaan 2,4-D sahaja. Saiz, warna, bilangan dan rupa bentuk kalus yang diperolehi adalah berbeza di antara genotip dan bergantung kepada media yang digunakan, jenis tisu sasaran dan hubungan di antara faktor tersebut (Lee *et al.*, 2002). Telah dilaporkan bahawa kriteria embriogeni di dalam kalus embriogeni padi biasanya berdasarkan warna (Oinam & Kothari 1995). Sahoo *et al.*, (2011) juga telah melaporkan kategori kalus embriogeni dan tidak embriogeni bagi padi indika kultivar IR64, PB1, CSR10 dan Swarna. Terdapat 4 jenis kategori kalus padi iaitu I dan II adalah embriogeni manakala tidak embriogeni adalah daripada jenis III dan IV (Visarada *et al.* 2002). Dapatan kajian ini menunjukkan, kalus embriogeni yang terbentuk adalah jenis II berdasarkan morfologi dan warnanya. Pemerhatian yang sama dilihat dalam kajian ini di mana kalus embriogeni kultivar Wai dan Panderas adalah berwarna putih kekuningan, kering dan berbentuk nodular. Kajian yang dijalankan ini menunjukkan bahawa pembentukan kalus embriogeni bergantung pada genotip dan varieti padi yang digunakan (Islam *et al.* (2005), Lee *et al.*, (2002) dan Rashid *et al.*, (2003). Induksi kalus yang embriogeni adalah perkara utama kerana frekuensi regenerasi bergantung kepada kualiti kalus yang dihasilkan dan sekaligus merupakan perkara asas yang sangat penting dalam menentukan kejayaan kaedah regenerasi *in vitro*.

3.1 Sifat Pemiakan Kuantitatif

Kajian awal sifat pemiakan kuantitatif pada padi bukit Wai yang ditanam tanpa menggunakan baja, menggunakan baja komersil EM dan tanah komersil mengandungi baja EM. Pada usia 28 hari, kesemua jenis padi mempunyai ketinggian yang hampir sama bagi tanaman tanpa menggunakan baja dan baja komersil EM (purata 45cm) manakala padi yang ditanam menggunakan tanah komersil mengandungi baja EM mempunyai ketinggian paling rendah (purata 22 cm). Walaubagaimanapun, pada usia 42 hari, kesemua pokok yang ditanam menggunakan tanah komersil mengandungi baja EM didapati telah mati. Hasil pemerhatian terhadap sifat pemiakan

kuantitatif pada pokok padi tanpa menggunakan baja dan menggunakan baja komersil EM adalah seperti di Jadual 2.

Jadual 2 Perbandingan sifat pemiakan kuantitatif antara pokok yang ditanam tanpa menggunakan baja (CON) dan pokok yang ditanam menggunakan baja komersil EM (EM)

	Ketinggian pokok (cm)	Hari sehingga berbunga	Hari sehingga matang	Ratio panjang ke lebar daun bendera	Jumlah tiller per hill	Jumlah panikel per panikel (cm)	Spikelet per panikel	Jumlah bijirin per panikel	Kesuburan spikelet (%)	
CON	71.6 ±4.5	97± 3.5	135 ±	33. 4±	3.5 ±	1 ±	16. 7±	4± 0.2	9.2 5±	57. 8±
EM	58.2 ±3.3	95± 1.7	131 ±	45. 7±	3.0 ±	1 ±	16. 7±	4.1 ±	17. 5±8	73. 2±
			0.5	4.3	0.7	0	1.7	0.3	.5	5.7

Berdasarkan hasil keputusan yang diperolehi, bijirin bagi setiap panikel yang dihasilkan agak rendah. Ini kerana hanya 1 panikel sahaja dihasilkan bagi setiap hill. Jumlah spikelet bagi setiap panikel juga agak rendah jika dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan oleh Sohrabi *et al.* (2012). Namun begitu, jumlah hari sehingga berbunga dan hari sehingga matang yang diperhatikan berada di dalam julat yang dilaporkan pada beberapa jenis padi bukit di Malaysia (Sohrabi *et al.*, 2012). Hasil kajian menunjukkan data asas daripada sifat kuantitatif mempunyai kepentingan bagi pengurusan tanaman, peningkatan tanaman dan pemindahan sifat-sifat yang dikehendaki (Sasaki, 2005). Perkaitan antara sifat-sifat ini dapat membantu pemilihan ciri-ciri penting bagi meningkatkan hasil tanaman terutama bagi penanaman padi.

4.0 RUMUSAN

Maklumat awal penginduksian kalus yang diperolehi dalam kajian ini boleh membantu para penyelidik-penyelidik tisu kultur khususnya kepada kajian padi bukit Malaysia. Walau bagaimanapun, kajian berasaskan histologi dan SEM perlu dilakukan bagi membuktikan ciri-ciri embriogeni. Manakala, kajian daripada sifat pemiakan kuantitatif menyebabkan pemisahan dan pemilihan jenis padi bukit dapat dilakukan berdasarkan sifat-sifat paling baik. Ini dapat membantu para petani meningkatkan hasil tanaman serta menjadi panduan asas kepada manipulasi penyelidikan padi bukit dalam pelbagai bidang.

Penghargaan

Terima kasih kepada Universiti Teknologi (UTM) dan MOHE kerana menaja penyelidikan ini melalui nombor vot Q.J130000.2444.00G65.

Rujukan

- Geng, P., La, H., Wang, H. & Stevens, E. J. C. 2008. Effect of Sorbitol Concentration on Regeneration of Embryogenic Calli in Upland Rice Varieties (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 92(3): 303–313.
- Hanafi, M. M., Hartinie, A., Shukor, J. Mahmud, T. M. M. 2009. Upland Rice Varieties in Malaysia: Agronomic and Soil Physico-

- Chemical Characteristics. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.* 32(2): 225–246.
- [3] Islam, M., Ahmed, M. & Mahaldar, D. 2005. *In vitro* Callus Induction and Plant Regeneration in Seed Explants of Rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agriculture and Biological Science.* 1(1): 72–75.
- [4] Lee, K. S., Jeon, H. S. & Kim, M. Y. 2002. Optimization of a Mature Embryo-based *In Vitro* Culture System for High-frequency Somatic Embryogenic Callus Induction And Plant Regeneration from Japonica Rice Cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 71(3): 237–244.
- [5] Lin, Y. Z. & Zhang, Q. 2005. Optimising the Tissue Culture Conditions for High Efficiency Transformation of *indica* Rice. *Plant Cell Reports* 23(8): 540–547.
- [6] Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue Culture. *Physiology Plantarum.* 15: 473–479.
- [7] Oinam, G. S. & Kothari, S. L. 1995. Totipotency of Coleoptile Tissue in Indica rice (*Oryza sativa* L. cv. CH 1039). *Plant Cell Reports.* 14(4): 245–248.
- [8] Ozawa, K., Kawahigashi, H., Kawano, T. & Ohkawa, Y. 2003. Enhancement of Regeneration of Rice (*Oryza sativa* L.) Calli by Integration of the Gene Involved in Regeneration Ability of Callus. *Plant Science.* 165: 395–402.
- [9] Rashid, H., Mohammad Abbasi, F. & Quraishi, A. 2003. Plant Regeneration from Seed Derived Callus of 3 Varieties of Basmati Rice. *Plant Tissue Culture.* 13(1): 75–79.
- [10] Sahoo K.K., Tripathi A.K, Pareek A, Sopory S.K and Singla-Pareek S.L. 2011. An Improved Protocol for Efficient Transformation and Regeneration of Diverse Indica Rice Cultivars. *Plant Method.* 7: 49.
- [11] Sasaki, T. 2005. The Map-based Sequence of the Rice Genome. *Nature.* 436(7052): 793–800.
- [12] Shahsavari, E. 2009. Contribution of Sorbitol on Regeneration of Embryogenic Calli in Upland Rice. *International Journal of Agriculture & Biology.* 13: 838–840.
- [13] Sohrabi, M., Rafii, M.Y., Hanafi, M.M., Siti nor Akmar, A., Latif, M. A. 2012. Genetic Diversity of Upland Rice Germplasm in Malaysia Based on Quantitative Traits. *Scientific World Journal.* doi:10.1100/2012/416291.
- [14] Wang, Y. Q., Duan, Z. G., Huang, J. K. & Liang, C. Y. 2004. Efficient Regeneration from *In Vitro* Young Panicles of Rice (*Oryza sativa* L.). *Chinese Bulletin Botanical.* 21: 52–60.