Bul. Agron. (30) (1) 27 – 30 (2002)

Peta Genetika Tanaman, Prinsip dan Aplikasinya

Plant's Genetic Map, Principle and Application

Memen Surahman[1)]

ABSTRACT

A complete genetic map, including genetic markers for all regions of all the chromosomes in a genome, serves as framework for determining the location of genes responsible for variation in plant growth and development. Strategies for mapping both discrete and continous phenotypes are well-established, as are efficient experimental approaches which minimize the time and cost of genetic mapping. Genetic map represents a powerful tool in studying the basis of variation in plant growth and development, and in testing hypothesis about possible candidate genes. Moreover, genetic mapping serves as starting point for cloning genes, the function (s) of which are known only from mutant phenotypes.

Key Words : Genetic map, Linkage, Genome

Peta Genetika

Peta genetika merupakan konsep pengembangan dari genetika klasik melalui biologi molekuler. Peta genetika ini merupakan bidang penelitian yang relatif baru dalam ilmu biologi (*life science*). Sejak tahun 1970 ketika gen pertama kali dapat diklon, penelitian genetika pada sebagian besar organisme mengalami pergeseran ke tingkat DNA. Hal ini dapat dipahami, berdasarkan kepada fakta bahwa ada hubungan sebab akibat antara perubahan dalam genotipa dengan perubahan dalam fenotipa, tetapi kemampuan untuk mengidentifikasi elemen DNA yang spesifik untuk fenotipa tertentu baru ditemukan akhir-akhir ini.

Peta genetika dapat dianalogikan sebagai suatu ruas jalan raya yang terdiri dari banyak gang dan di kanan kiri terdapat gedung atau bangunan. Pada peta genetika gang-gang tersebut adalah penanda penanda yang satu dengan lainnya terpaut dengan jarak yang tertentu dalam suatu kromosom. Semakin banyak penanda yang dipetakan dalam suatu kromosom semakin lengkap peta genetika tersebut. Dengan bantuan molekuler seorang ahli genetik dapat menentukan penanda DNA spesifik pada tempat yang tertentu sepanjang kromosom. Melalui peta genetika sekarang dimungkinkan menentukan gen dan jumlah gen yang bertanggung jawab terhadap karakter tertentu, lokasinya pada kromosom dan kekuatan pengaruh gen tersebut terhadap suatu karakter.

Jauh sebelum DNA penanda ditemukan, ada beberapa penanda genetika yang telah digunakan. Penanda morfologi atau penanda fenotipa atau sering disebut juga penanda agronomi telah digunakan sejak tahun 1910. Kelemahan penanda morfologi adalah tingkat polimorphisme sangat terbatas. Banyak penanda morfologi yang satu dengan lainnya tidak dapat membedakan genotipa antar individu tanaman. Selain itu penanda ini sangat dipengaruhi oleh lingkungan. Penanda kedua adalah penanda biokimia, contoh yang paling populer adalah penggunaan isozim. Penanda ini telah dipakai sejak tahun 1959. Penanda ini mempunyai tingkat polimorfisme cukup tinggi, tetapi jumlah penanda sangat sedikit. Keterbatasan lain adalah penanda ini sangat dipengaruhi oleh fase pertumbuhan tanaman. Penanda ketiga adalah penanda DNA yang mulai digunakan sejak tahun 1980 (Botstein *et al.*, 1980). Penanda ini selain tingkat polimorfismenya tinggi juga jumlahnya tidak terbatas. Di samping itu penanda DNA tidak dipengaruhi lingkungan dan tingkat heritabilitasnya 100%.

Suatu penanda akan efektif apabila memiliki dua karakter (Paterson, 1996), yaitu :

1. Penanda harus dapat membedakan di antara dua tetua yang berbeda genotipanya.

[1)] Jurusan Budi Daya Pertanian, Fakultas Pertanian, IPB
Jl. Meranti Kampus Darmaga, Bogor 16680
Telp/Fax.: 0251- 629 353
E mail : msurahm@lycos.com

2. Penanda harus secara tepat diwariskan atau ditransmisikan kepada keturunannya.

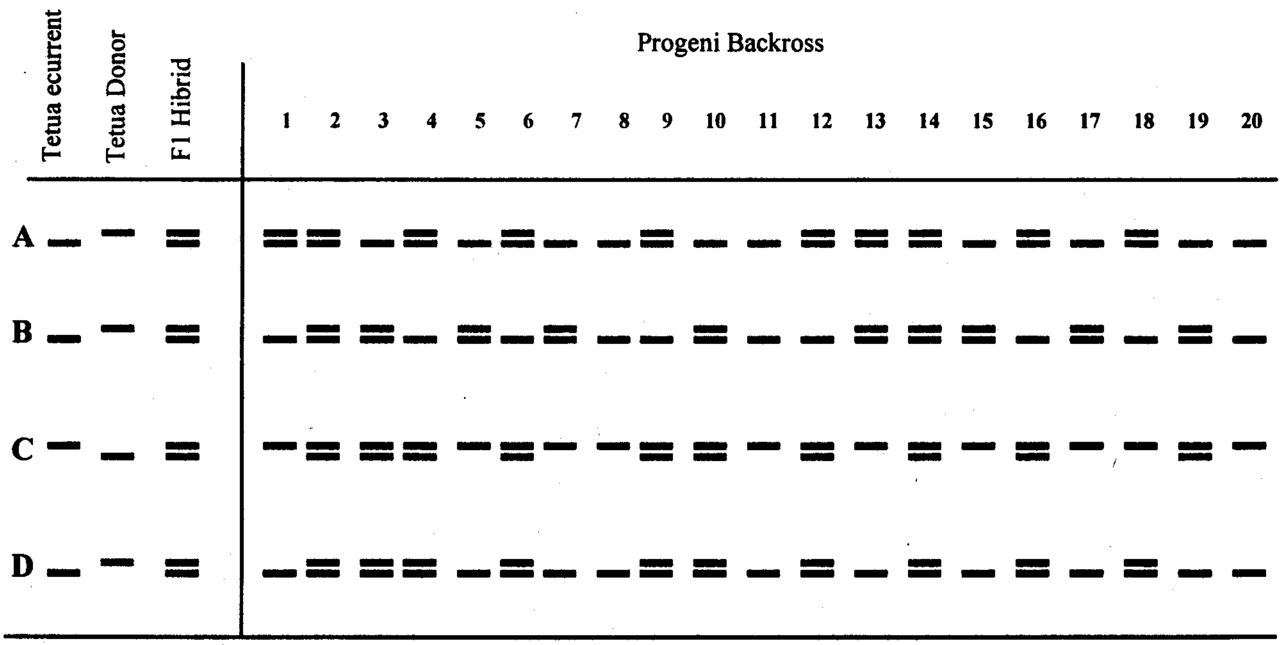
Contoh penanda yang baik adalah golongan darah. Jika seseorang yang bergolongan darah O menikahi orang yang bergolongan darah A, maka anak-anaknya akan mempunyai golongan darah A atau O. Lain dari itu tidak mungkin. Sebaliknya tinggi badan seseorang tidak dapat dijadikan sebagai penanda yang baik, karena walaupun seringkali kedua orang tuanya sangat berbeda dalam tinggi badan, anak-anaknya sering mempunyai tinggi badan di antara kedua orang tuanya, sebagai hasil interaksi genetik dengan lingkungannya.

Beberapa teknik telah dikembangkan untuk memvisualisasikan penanda DNA. Dalam tanaman yang paling banyak digunakan adalah penanda RFLP (*restriction fragment length polymorphisms*). RFLP mempunyai beberapa kelemahan, sehingga para peneliti sekarang banyak bergeser kepada penanda RAPD (*randomly amplified polymorphic DNA*). Selain lebih murah penggunaan penanda ini juga lebih sederhana dan tidak memerlukan informasi urutan DNA sebelumnya serta hanya memerlukan 10% DNA per individu dibandingkan RFLP (Paterson, 1996), sehingga penggunaan penanda RAPD ini cepat meluas dan bukan hanya di tingkat penelitian.

Prinsip Dasar Pembuatan Peta Genetika

Hubungan antara penanda DNA ditentukan oleh prinsip keterpautan genetik (*genetic linkage*). Hal ini berdasarkan kepada pengertian bahwa genom diorganisasikan dan ditrasmisikan sebagai unit linier, yang disebut kromosom. *Genetic linkage* atau "kotransmisi" penanda genetika yang berdekatan dari tetua kepada progeni pada kromosom yang sama, memungkikan untuk menentukan urutan penanda DNA sepanjang kromosom.

Sebagai contoh, misalnya ada empat penanda yaitu A, B, C, dan D, yang diujikan pada 20 progeni silang balik (*backcross*) dari individu heterozigos kepada salah satu tetua homozigosnya (Gambar 1). Hasil skoring pita genetikanya adalah seperti pada Tabel 1. Skor ini dihitung berdasarkan perbedaan pita genetik hasil elektroforesis antara penanda satu dengan lainnya.

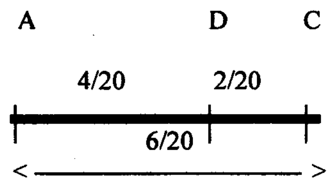


Gambar 1. Contoh sederhana analisis keterpautan genetik dalam progeni backross (Paterson, 1996)

Tabel 1. Perbedaan pita genetika antara penanda A, B, C, dan D pada 20 individu progeni silang balik *backcross*

	B	C	D
A	14	6	4
B	-	10	12
C	-	-	2

Berdasarkan kepada Tabel 1 tersebut jelas terlihat bahwa penanda B tidak terpaut (*unlinked*) dengan penanda manapun karena mempunyai perbedaan pola pita genetik yang besar (lebih dari 50%). Antara penanda A, C dan D menunjukkan kemiripan atau keterpautan. Hanya enam individu menunjukkan perbedaan genotipa antara penanda A dan C. Dua individu menunjukkan perbedaan genotipa antara C dan D. Empat individu menunjukkan perbedaan genotipa antara penanda A dan D. Hal ini, apabila digambarkan pada suatu garis linier, maka posisi penanda D terletak di antara penanda A dan C, lebih dekat kepada penanda C daripada ke penanda A (Gambar 2).



Gambar 2. Urutan penanda DNA pada suatu kromosom

Prinsip seperti di atas dapat diterapkan pada ratusan bahkan ribuan penanda. Dengan demikian suatu *linkage map* atau peta genetika yang menggambarkan hubungan antar penanda dapat dibuat. Kini telah banyak program komputer yang dikembangkan untuk mendukung analisis data dalam rangka membuat peta genetika, antara lain adalah *Mapmaker* (Lander *et al.* 1987), *JoinMap* (Stam, 1993), *Gmendel* (Liu, 1992), *Cri-Map* (Weaver, 1992), dan *MapManager* (Manly, 1995). Suatu peta genetika dinyatakan sempurna apabila seluruh wilayah kromosom telah tertutup oleh penanda, dengan jarak rata-rata antar penanda 5 cM, dan hanya 1% saja terdapat jarak antar penanda 25 cM. Di samping itu jumlah kelompok bertaut (*linkage group*) harus identik dengan jumlah haploid kromosom suatu tanaman (Paterson, 1996).

Hubungan Penanda Genetika dengan Fenotipa

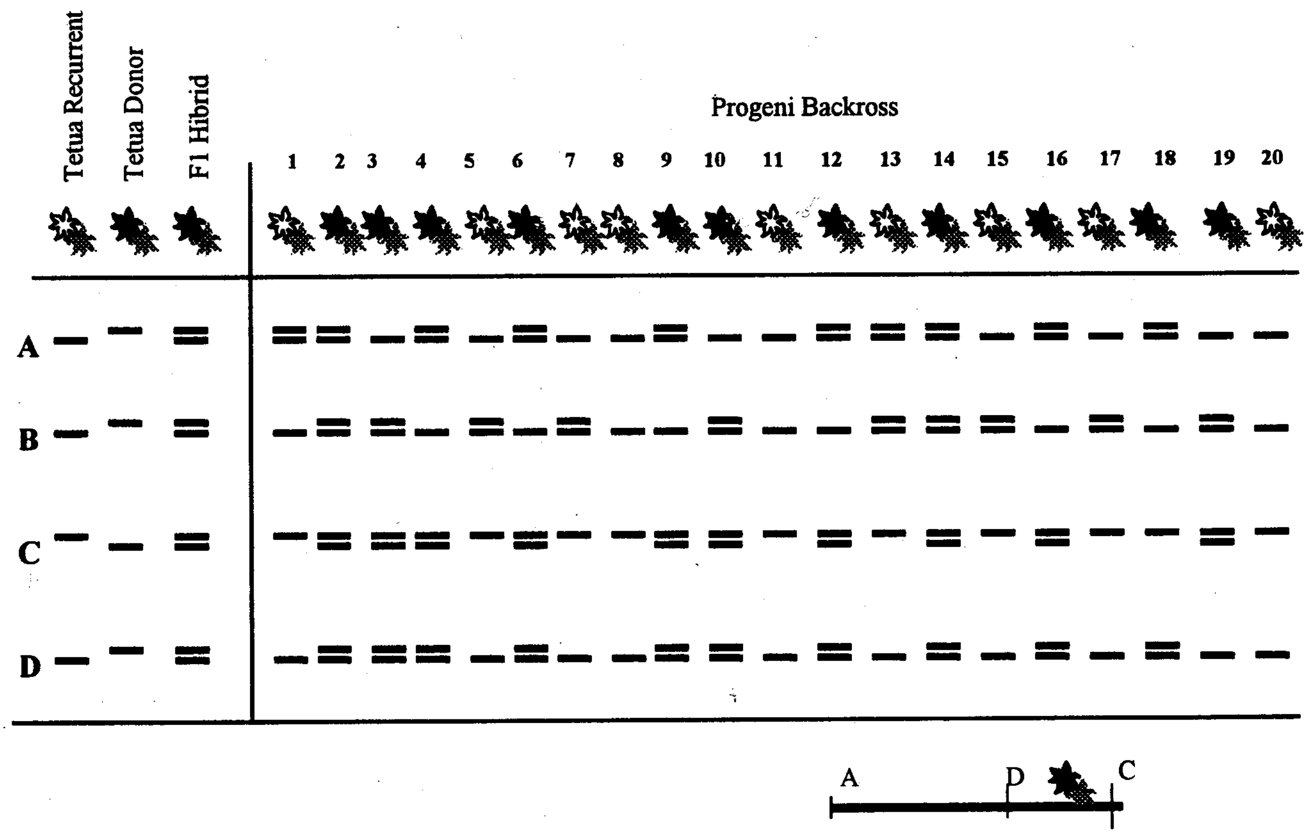
Peta genetika menyediakan informasi tentang jumlah gen yang mempengaruhi karakter, lokasinya pada kromosom, dan pengaruhnya. Peta genetika menyediakan informasi untuk membantu seleksi, seleksi berbantuan penanda (*marker assisted selection*), suatu pendekatan yang sangat penting dalam perbaikan sifat-sifat tanaman. Peta genetika juga dapat dijadikan informasi awal bagi kegiatan kloning, kloning barbasis peta (*map-based cloning*) dari suatu gen yang terkait dengan suatu karakter tertentu.

Jumlah gen yang terlibat untuk suatu variasi fenotipa sangat bervariasi. Variasi fenotipa yang disebabkan oleh lokus gen tunggal adalah sangat sederhana untuk dibuat petanya. Tetapi sebaliknya, jika variasi fenotipa dipengaruhi oleh banyak gen maka diperlukan pendekatan matematika yang lebih rumit untuk membuat petanya.

Suatu contoh dari pemetaan karakter sederhana, dari 20 individu yang telah digambarkan di atas (Gambar 1), dapat dilanjutkan dengan analisis warna bunganya. Misalnya tetua berulang (*recurrent*)-nya mempunyai bunga warna putih, tetua donornya berwarna bunga merah, sedangkan F1-nya berwarna bunga merah. Kemudian diamati warna bunganya dikaitkan dengan peluang terjadinya pita genetika dari hasil elektroforesis. Berdasarkan contoh tersebut dapat disimpulkan bahwa karakter warna bunga terletak antara interval penanda D dan C (Gambar 3).

Dewasa ini, beberapa pendekatan telah diterapkan untuk menyederhanakan dan mempercepat pemetaan dari sifat sederhana dengan menggunakan penanda molekuler. Suatu pendekatan yang pertama kali dipakai adalah dengan menggunakan *near isogenic line (NIL)*. *NIL* ini dibuat dengan cara silang balik berkali-kali, antara tetua donor yang memiliki karakter baik tertentu, di mana sifat baiknya akan dimasukkan ke dalam suatu tetua yang secara umum memiliki sifat baik. Berdasarkan kepada polimorfisme di dalam segmen kecil kromosom yang berbeda antara genotip baru dengan tetua berulangnya, gen tersebut dapat diletakkan pada peta genetika.

Pendekatan lain adalah dengan menggunakan pool genetika yang disebut *bulk segregant analysis (BSA)*. Dengan mengadakan pool antara individu resisten dengan individu peka terhadap suatu penyakit, maka dapat dipetakan penanda DNA yang bertanggung jawab terhadap sifat resisten tersebut. Contoh-contoh tersebut berkaitan dengan sifat yang mewaris secara sederhana dan bersifat diskrit atau diskontinyu. Untuk sifat yang kontinyu yang dikendalikan oleh banyak gen (*polygen*) dapat juga dipetakan dengan menggunakan peta genetika yang lengkap dengan populasi yang meliputi 200 individu atau lebih.



Gambar 3. Pemetaan gen diskrit. Analisis keterpautan antara penanda dengan karakter warna bunga (evaluasi dari Gambar 1)

DAFTAR PUSTAKA

Botstein, D., R. L. White, M. Skolnick, R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32:314-331.

Lander E.S., P. Green, J. Abrahamson, A. Barlow, M.J. Daly, S.E. Lincoln, L. Newburg. 1987. MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. Genomics. 1:174-181.

Liu, B. H., S. J. Knapp. 1992. G. Mendel: A program for Mendelian segregation and linkage analysis of individual or multiple progeny populations using log-likelihood ratios. J. Hered. 81:407.

Manly, K. F. 1995. New functions in Map Manager, a microcomputer program for genomic mapping. Proceedings of Plant Genome III. San Diego, CA, 15-19 Jan 1995.

Paterson, A. H. 1996. Genome Mapping in Plants. R.G. Landes Company. Austin, Texas, USA.

Stam, P. 1993. Construction of integrated genetic linkage maps by means of a new computer package: JoinMap. Plant J. 3:739-744.

Suiter, K. A., J. F. Wendel, J. S. Case. 1983. Linkage-1: a Pascal computer program for the detection and analysis of genetic linkage. J. Hered. 74:203-204.

Weaver, R., C. Helms, S.K. Mishra, H. Donis-Keller. 1992. Software for analysis and manipulation of genetic linkage data. Am. J. Hum. Genet. 50:1267-1274.