

Analisis Marka RAPD yang Terpaut dengan Toleransi terhadap Naungan pada Kedelai

Analysis of RAPD Marker Linked to Shading Stress Tolerance of Soybean

Desta Wirnas^{1*}, Didy Sopandie¹, Trikoesoemaningtyas¹, dan Sobir¹

¹Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga 16680, Indonesia

Diterima 20 Desember 2010/disetujui 20 April 2011

ABSTRACT

The objective of the research was to identify RAPD markers linked to QTL related to agronomic traits of soybean under low-light intensity condition. The genetic material used in the QTL analysis based on RAPD Markers were Ceneng, Godek, and F6 RILs derived from hybridization between Ceneng (tolerant parent) and Godek (sensitive parent). The results of molecular analysis showed that 9 primers were polymorphic and linked to the tolerant parent. Primers produce 14 RAPD markers which were polymorphic and linked to the tolerant parent. The markers were distributed into a linkage group that containing seven markers. RAPD Markers (OPE15-800, OPM20-800) were linked to two QTL controlling number of productive node and seed weight, respectively. The marker linked to the tolerant parent could be used as a marker assisted selection for high-yielding soybean lines under low-light intensity.

Keywords: low light intensity, QTL, RAPD, seed weight, soybean

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi marka RAPD yang terpaut QTL yang mengendalikan karakter agronomi kedelai pada kondisi intensitas cahaya rendah. Bahan tanaman yang digunakan adalah tetua Ceneng dan Godek, masing-masing merupakan tetua toleran dan peka terhadap intensitas cahaya rendah dan RILs F6 hasil persilangan kedua tetua. Hasil yang diperoleh dari analisis molekuler adalah 9 primer RAPD yang menghasilkan 14 marka RAPD yang polimorfik dan terpaut dengan tetua toleran terhadap intensitas cahaya rendah. Konstruksi peta pautan dibuat dengan menggunakan 14 marka RAPD tersebut menghasilkan satu kelompok pautan yang mengandung tujuh marka. Dalam penelitian ini diperoleh dua QTL yang masing-masing mengendalikan karakter jumlah buku total dan daya hasil. Marka yang terpaut dengan QTL yang mengendalikan karakter jumlah buku total adalah OPE15-800, sedangkan marka RAPD yang terpaut dengan QTL yang mengendalikan karakter daya hasil adalah OPM20-800. Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan untuk menggunakan marka yang terpaut dengan QTL yang mengendalikan daya hasil sebagai alat bantu seleksi bagi kedelai toleran terhadap intensitas cahaya rendah.

Kata kunci: daya hasil, intensitas cahaya rendah, kedelai, RAPD, QTL

PENDAHULUAN

Kendala utama budidaya kedelai di bawah tegakan karet adalah berkurangnya intensitas cahaya yang diterima oleh tanaman. Pengurangan intensitas cahaya dapat mencapai 75% pada tegakan karet yang berumur 4 tahun (Chozin *et al.*, 1998). Penurunan intensitas cahaya adalah faktor yang membatasi pertumbuhan dan produksi kedelai di bawah tegakan karet sehingga pemanfaatan lahan di bawah tegakan karet akan menguntungkan jika tersedia varietas yang toleran terhadap intensitas cahaya rendah.

Pemuliaan kedelai untuk toleransi terhadap intensitas cahaya rendah (naungan) sudah dimulai oleh Sopandie *et al.* (2003) dengan melakukan koleksi dan karakterisasi

plasma nutfah kedelai. Sampai saat ini pemuliaan kedelai untuk toleransi terhadap intensitas cahaya rendah sudah memasuki tahap seleksi. Kendala yang dihadapi dalam seleksi adalah belum ada karakter seleksi yang tepat untuk kedelai toleran intensitas cahaya rendah. Seleksi pada lingkungan bercekaman membutuhkan karakter seleksi yang tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daya hasil mempunyai nilai heritabilitas lebih besar dibandingkan dengan karakter lainnya sehingga seleksi akan efisien jika dilakukan berdasarkan daya hasil (Wirnas, 2007). Seleksi berdasarkan hasil harus dilakukan di bawah tegakan tanaman karet sehingga menjadi sulit karena daya hasil dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan selain intensitas cahaya. Menurut Tester dan Bacic (2005), untuk memaksimalkan kemajuan seleksi pada lingkungan

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: desta.wirnas@yahoo.com

bercekaman maka seleksi harus dilakukan pada lingkungan target dengan karakter seleksi yang tepat.

Seleksi pada lingkungan bercekaman memerlukan karakter seleksi yang tidak dipengaruhi oleh lingkungan (stabil) atau mempunyai nilai heritabilitas yang tinggi dan tidak memperlihatkan interaksi genotipe dengan lingkungan. Karakter seleksi yang demikian adalah karakter kualitatif, namun sampai sejauh ini belum dilaporkan adanya karakter kualitatif kedelai yang dapat dijadikan kriteria seleksi untuk perbaikan daya hasil pada kondisi intensitas cahaya rendah.

Marka molekuler merupakan karakter seleksi yang stabil. Marka molekuler yang dapat dijadikan sebagai alat bantu seleksi adalah marka molekuler yang terpaut dengan QTL yang mengendalikan karakter yang ingin diperbaiki (Forster *et al.*, 2000; Azrai *et al.*, 2002; Ruswandi *et al.*, 2002; Hussain, 2006). Sampai saat ini analisis QTL untuk daya hasil dan toleransi terhadap berbagai cekaman abiotik pada kedelai sudah banyak dilaporkan (Specht *et al.*, 2001; Ishitani *et al.*, 2004; Funatsuki *et al.*, 2005; Changrong *et al.*, 2006), namun untuk toleransi terhadap naungan belum dilaporkan. Tujuan penelitian ini adalah melakukan analisis QTL untuk toleransi terhadap naungan berdasarkan marka RAPD dan mengaplikasikannya langsung dalam proses seleksi terhadap populasi yang digunakan.

BAHAN DAN METODE

Percobaan ini terdiri dari dua tahap yaitu analisis keragaman karakter agronomi RILs (*recombinant inbred lines*) F6 pada kondisi intensitas cahaya rendah dan konstruksi peta pautan bagi tetua toleran intensitas cahaya rendah. Data yang diperoleh digunakan untuk mengidentifikasi QTL yang berhubungan dengan karakter agronomi kedelai pada intensitas cahaya rendah.

Analisis fenotipe RILs F6 dilaksanakan di kebun percobaan milik BALITBIOGEN Cimanggu, sedangkan percobaan laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler Tanaman, Pusat Penelitian Perkebunan, Bogor dan Laboratorium RGCI, Departemen Agronomi dan Hortikultura Faperta IPB.

Bahan tanaman yang digunakan adalah tetua Ceneng dan Godek, masing-masing merupakan tetua toleran dan peka terhadap intensitas cahaya rendah, dan 45 RILs F6 hasil persilangan kedua tetua. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) dengan genotipe yang terdiri dari genotipe Ceneng, Godek dan 45 RILs generasi F6 sebagai perlakuan dan tiap perlakuan diulang 3 kali. Pengamatan dilakukan pada karakter agronomi yang meliputi tinggi tanaman saat panen, jumlah cabang produktif, jumlah buku total, jumlah polong isi, jumlah polong hampa, jumlah polong total, persentase polong isi, dan bobot biji per tanaman.

Analisis data yang dilakukan terdiri dari uji nilai tengah antara tetua Ceneng dan Godek berdasarkan uji t dan analisis ragam untuk pendugaan komponen ragam. Berdasarkan sumber keragaman maka dapat ditentukan ragam fenotipe (V_p), ragam genotipe (V_g), dan nilai heritabilitas dalam arti luas (h^2_{bs}).

Konstruksi peta pautan dimulai dengan isolasi DNA dengan menggunakan metode CTAB yang telah dimodifikasi oleh Nurita dan Hutabarat (1997). DNA yang diperoleh diamplifikasi dengan menggunakan primer RAPD dan dielektroforesis untuk mengetahui hasil amplifikasi.

Posisi pita hasil amplifikasi akan menunjukkan panjang pita tertentu berdasarkan posisinya terhadap DNA ladder (100 bp). Setiap pita amplifikasi merupakan satu lokus dengan ukuran pita tertentu. Kriteria pemberian skor adalah berdasarkan muncul atau tidaknya pita. Lokus yang dipilih untuk pemetaan adalah lokus yang hanya menghasilkan amplifikasi pada tetua Ceneng. Ketentuan yang digunakan untuk memberikan skor pada setiap pita adalah :1. Diberikan skor A untuk pada tetua Ceneng, 2. Diberi skor B tetua Godek.

Data yang diperoleh dari pemberian skor hasil amplifikasi digunakan untuk mengkonstruksi peta pautan dengan menggunakan perangkat lunak MAPMAKER/EXP 3.0. Keterpautan antar lokus ditetapkan pada LOD (*logg of the odd*) 3.0 dengan fraksi rekombinan sebesar 25%. Unit jarak peta diduga dengan menggunakan fungsi Haldane (Liu, 1998).

Dalam analisis QTL diperlukan data kuantitatif dan data molekuler. Dalam penelitian ini data kuantitatif yang digunakan adalah data fenotipe RILs F6, sedangkan data molekuler adalah data genotipe yang diperoleh dari hasil analisis DNA. Analisis data untuk mengidentifikasi adanya QTL dilakukan dengan metode *simple interval mapping* (SIM) dengan bantuan perangkat lunak PLABQTL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Karakter Agronomi Kedelai RILs F6 dan Tetua dalam Kondisi Cekaman Naungan

Berdasarkan hasil uji F diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan genotipe pada karakter agronomi kedelai generasi F6 dalam kondisi intensitas cahaya rendah yang ditunjukkan dengan hasil uji F yang berbeda sangat nyata untuk semua karakter kecuali karakter jumlah polong hampa dan persen polong isi. Hal ini menunjukkan terdapat keragaman pada fenotipe RILs F6 pada kondisi naungan (Tabel 1).

Keragaman yang diamati dapat disebabkan oleh pengaruh genotipe, lingkungan dan interaksi antara genotipe dan lingkungan. Lingkungan dapat memperbesar atau memperkecil keragaman fenotipe (Roy, 2000). Berdasarkan pemisahan nilai kuadrat tengah harapan diperoleh informasi bahwa keragaman karakter agronomi kedelai dalam kondisi cekaman naungan disebabkan oleh faktor genotipe dan lingkungan dan pada beberapa karakter menunjukkan bahwa pengaruh genotipe lebih besar dibandingkan pengaruh lingkungan (Tabel 2). Keragaman yang dimiliki oleh populasi kedelai RILs F6 menunjukkan bahwa populasi RILs F6 dapat dijadikan populasi pemetaan untuk toleransi terhadap naungan.

Berdasarkan hasil uji t diketahui bahwa keragaman tetua Ceneng dan Godek tidak berbeda nyata untuk semua karakter yang diamati kecuali bobot biji per tanaman

(Tabel 3). Dengan demikian dalam keadaan intensitas cahaya rendah hanya bobot biji per tanaman yang dapat membedakan antara tetua Ceneng dan Godek sehingga analisis marka QTL diarahkan untuk mendapatkan marka RAPD yang terpaut dengan daya hasil tinggi pada kedelai dalam kondisi intensitas cahaya rendah.

Tetua Ceneng mempunyai bobot biji per tanaman lebih tinggi dibandingkan dengan tetua Godek. Tetua Ceneng dapat menangkap dan menggunakan cahaya lebih

efisien dibandingkan dengan tetua Godek (Sopandie *et al.*, 2003). Cahaya sangat berperan dalam proses fotosintesis. Semua fotosintat yang diperlukan untuk pengisian biji merupakan hasil fotosintesis (Taiz dan Zeiger, 1991). Tetua Ceneng lebih efisien dalam berfotosintesis sehingga menghasilkan fotosintat lebih banyak yang ditunjukkan oleh bobot biji per tanaman yang lebih besar dibandingkan tetua Godek. Menurut La Muhuria (2007), tetua Ceneng paling efisien dalam menangkap dan menggunakan cahaya karena

Tabel 1. Rekapitulasi analisis sidik ragam pengaruh genotipe terhadap karakter agronomi kedelai RILs F6 pada kondisi cekaman naungan

Karakter	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	P value
Tinggi tanaman saat panen	35926.1	718.5	0.000**
Jumlah cabang produktif	745.197	14.904	0.001**
Jumlah buku total	2321.25	46.43	0.004**
Jumlah polong isi	17638.6	352.8	0.005**
Jumlah polong hampa	226.642	4.533	0.060 tn
Jumlah polong total	20636.8	412.7	0.001**
Persen polong isi	3928.23	78.56	0.141tn
Bobot biji per tanaman	221.185	4.424	0.002**

Keterangan: ** berpengaruh nyata pada taraf 1%; tn = tidak berpengaruh nyata

Tabel 2. Nilai ragam fenotipe, ragam lingkungan, ragam genotipe, dan nilai heritabilitas kedelai generasi F6 pada kondisi cekaman naungan

Karakter	Ragam fenotipe	Ragam genotipe	Heritabilitas arti luas (%)
Tinggi tanaman saat panen (cm)	239.50	142.97	59.69
Jumlah cabang produktif	0.50	0.26	52.40
Jumlah buku total	15.48	7.24	46.80
Jumlah polong isi	117.60	53.90	45.83
Jumlah polong hampa	1.51	0.47	30.81
Jumlah polong total	137.57	69.53	50.55
Persen polong isi (%)	26.19	5.89	22.49
Bobot biji per tanaman (g)	1.47	0.74	50.29

Tabel 3. Hasil uji nilai tengah antara tetua Ceneng dan Godek pada kondisi cekaman naungan

Karakter	Nilai tengah Ceneng	Nilai tengah Godek	t hit	P value
Tinggi tanaman saat panen (cm)	119.0 ± 3.2	107.9 ± 15.7	-1.45	0.30
Jumlah cabang produktif	3.3 ± 0.0	3.3 ± 0.5	0.00	1.00
Jumlah buku total	22.2 ± 2.3	20.3 ± 8.2	0.32	0.80
Jumlah polong isi	38.6 ± 7.4	37.3 ± 1.7	0.30	0.80
Jumlah polong hampa	2.2 ± 1.1	2.53 ± 0.1	-0.50	0.70
Jumlah polong total	40.8 ± 7.3	39.8 ± 1.7	0.22	0.08
Persen polong isi (%)	94.4 ± 3.1	93.6 ± 0.4	0.54	0.60
Bobot biji per tanaman (g)	6.0 ± 0.8	3.1 ± 0.6	11.2**	0.00

Keterangan: ** berbeda sangat nyata berdasarkan uji t

memiliki daun yang lebih tipis dan lebar, kepadatan trikoma yang lebih rendah, dan kandungan klorofil yang lebih tinggi dibandingkan dengan tetua lainnya.

Konstruksi Peta Pautan dan Analisis QTL untuk Toleransi terhadap Naungan

Konstruksi peta pautan dimulai dengan seleksi primer RAPD yang terpaut dengan tetua toleran naungan. Sebanyak 60 primer yang diseleksi menghasilkan 22 primer polimorfik dan 38 primer monomorfik. Di antara 22 primer yang polimorfik hanya 14 primer yang terpaut dengan tetua yang toleran naungan dan hanya 9 primer yang konsisten. Amplifikasi dengan primer polimorfik menghasilkan 40 lokus yang terdiri 16 lokus polimorfik dan terpaut dengan tetua toleran intensitas cahaya rendah dan 24 marka monomorfik (Tabel 4). Lokus polimorfik dan terpaut dengan tetua toleran naungan digunakan untuk konstruksi peta pautan untuk toleransi terhadap naungan. Dalam penelitian hanya diperoleh satu kelompok pautan.

Analisis QTL menghasilkan dua QTL yang masing-masing mengendalikan karakter jumlah buku produktif dan bobot biji per tanaman, sedangkan pada karakter yang lain tidak ditemukan adanya QTL. Walaupun diperoleh dua QTL, namun salah satu QTL adalah terpaut dengan karakter bobot biji per tanaman (Tabel 5).

Quantitative Trait Loci yang mengendalikan jumlah buku produktif terpaut dengan M11 atau primer OPE15. Lokus OPE15 yang terpaut dengan QTL jumlah buku

Tabel 4. Rekapitulasi hasil amplifikasi pada primer yang konsisten polimorfis dan terpaut dengan tetua toleran stres naungan

Primer	Jumlah pita monomorfik	Jumlah pita polimorfik	Total
OPE3	2	3	5
OPE15	4	2	6
OPH3	3	1	4
OPH7	5	2	7
OPH8	3	1	4
OPM8	1	1	2
OPM10	0	1	1
OPM15	4	1	5
OPM20	4	2	6
Total	24	16	40

produktif mempunyai panjang pita 800 bp (OPE15-800). QTL yang mengendalikan bobot biji per tanaman terpaut dengan M44 atau OPM20. Lokus OPM20 yang terpaut dengan QTL bobot biji per tanaman mempunyai panjang pita berukuran 800 bp (OPM20-800). Masing-masing QTL berkontribusi terhadap keragaman fenotipe sebesar 20.1% dan 22.6%.

Menurut Chahal dan Gosal (2003), keragaman yang dapat dijelaskan oleh masing-masing QTL berkisar antara 1 sampai 60%. Jumlah QTL yang ideal berkisar antara 1 sampai 6 QTL untuk masing-masing karakter sehingga dapat menjelaskan keragaman fenotipe sebesar antara 10 sampai 95%. Berdasarkan hasil-hasil penelitian sebelumnya, QTL yang diperoleh hanya dapat menjelaskan keragaman sekitar 20%, sedangkan sisanya disebabkan oleh pengaruh lingkungan.

QTL yang terpaut dengan karakter jumlah buku dan bobot biji per tanaman dapat dimanfaatkan sebagai alat bantu seleksi dalam pengembangan varietas toleran terhadap intensitas cahaya rendah. Dengan jarak ke marker terdekat sekitar 5 cM maka QTL dengan marker yang terdekat akan berkosegregasi. Kedua QTL diperoleh pada LOD lebih besar dari 2 sehingga tingkat reliabilitas masing-masing QTL cukup tinggi. Dengan demikian maka marker yang terpaut dengan masing-masing QTL dapat digunakan sebagai alat bantu seleksi. Menurut Chahal dan Gosal (2003), QTL yang diperoleh dari populasi RILs mempunyai tingkat resolusi yang lebih tinggi dibandingkan populasi bersegregasi lainnya.

Pemanfaatan marka yang berasosiasi dengan QTL merupakan salah satu strategi yang efisien untuk mendapatkan varietas baru yang berdaya hasil tinggi dan sekaligus membawa satu sifat ketahanan terhadap cekaman biotik maupun abiotik (Surahman, 2002; Terry *et al.*, 2000). Guna mengetahui apakah marker yang diperoleh dapat dimanfaatkan sebagai alat bantu seleksi maka dilakukan uji nilai tengah antara genotipe-genotipe yang membawa marker (marker positif) dengan genotipe yang tidak membawa marker (marker negatif). Hasil uji nilai tengah antara genotipe dengan marker positif dan genotipe dengan marker negatif untuk masing-masing marker yang terpaut dengan QTL untuk jumlah buku total dengan bobot biji per tanaman terdapat pada Tabel 6.

Berdasarkan uji nilai tengah maka hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan nilai tengah antara kelompok genotipe yang membawa marker (marker positif) dengan kelompok yang tidak membawa marker (marker negatif) untuk kedua karakter yang digunakan. Nilai tengah masing-masing karakter lebih tinggi pada genotipe yang

Tabel 5. QTL yang terpaut mengendalikan karakter agronomi kedelai pada kondisi cekaman naungan

Karakter	Jumlah QTL	Posisi (cM)	Marker terdekat	Jarak ke marker terdekat (cM)	LOD	R2 (%)	Efek aditif
Jumlah buku produktif	1	40	M11	6.3	2.20	20.1	-2.96
Bobot biji per tanaman	1	20	M44	5.0	2.50	22.6	-1.08

menunjukkan marker positif dibandingkan dengan nilai tengah genotipe dengan marker negatif. Berdasarkan nilai diferensial seleksi maka kedua marker dapat meningkatkan jumlah buku total sebesar 8.0% dan bobot biji per tanaman masing-masing sebesar 14.6%. Hal ini menunjukkan bahwa

marker yang terpaut dengan masing-masing QTL berperan dalam meningkatkan jumlah buku total maupun bobot biji per tanaman. Dengan demikian maka kedua marker ini dapat digunakan sebagai alat bantu seleksi dalam mengembangkan kedelai toleran intensitas cahaya rendah.

Tabel 6. Perbandingan nilai tengah dan nilai diferensial seleksi yang diperoleh dengan menggunakan marker yang terpaut dengan QTL untuk toleransi terhadap naungan kedelai

Parameter/karakter	Jumlah buku total	Bobot biji per tanaman
Nilai populasi	15	4.1
Nilai tengah genotipe dengan marker positif	16.2	4.7
Nilai tengah genotipe dengan marker negatif	12.2	3.6
Nilai t hitung	15.05**	6.45**
Diferensial seleksi (%)	8.0	14.6

Keterangan: ** berbeda sangat nyata berdasarkan uji t

KESIMPULAN

Terdapat dua QTL yang mengendalikan karakter agronomi kedelai pada kondisi cekaman naungan, masing-masing QTL mengendalikan karakter jumlah buku produktif dan bobot biji per tanaman. Masing-masing QTL berkontribusi terhadap keragaman fenotipe sebesar 20.1% dan 22.6%. Marka RAPD yang terpaut dengan kedua QTL yang diperoleh dapat digunakan sebagai alat bantu seleksi karena mempunyai tingkat reliabilitas yang cukup baik. Pemanfaatan marker RAPD yang terpaut dengan QTL sebagai alat bantu seleksi dapat meningkatkan jumlah buku total dan bobot biji per tanaman masing-masing sebesar 8.0% dan 14.6%

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh dana Hibah Tim Penelitian Pascasarjana, DIKTI tahun 2004-2006 dan L'Oreal Indonesia tahun 2004.

DAFTAR PUSTAKA

Azrai, M., Murdaningsih, N. Rostini, S. Muljopawiro, D. Ruswandi. 2002. QTL mapping of maize resistance to downy mildew in Bogor. *Zuriat* 13:113-120.

Chahal, G.S., S.S. Gosal. 2003. Principles and Procedures of Plant Breeding: Biotechnological and Conventional Approaches. Narosa Publishing House, Calcutta.

Changrong, Y., P. Sripichitt, V. Hongtrakul, S. Juntakool, A. Sripichitt. 2006. A QTL controlling the field resistance of soybean. *Sabrao J. Breed. Genet.* 38:93-103.

Chozin, M.A., D. Sopandie, S. Sastrosumarjo, Suwarno. 1998. Physiology and Genetic of Upland Rice Adaptation to Shade. Final Report of Graduate Team Reseach Grant, URGE Project. Jakarta: Directorate General of Higher Education, Ministry of Education and Culture.

Forster, B.P., R.P. Ellis, W.T.B. Thomas, A.C. Newton, R. Tuberosa, D. This, R.A. El-Enein, M.H. Bahri, M.B. Salem. 2000. The development and application of molecular markers for abiotic stress tolerance in barley. *J. Exp. Bot.* 51:2021-2029.

Funatsuki, H., K. Kawaguchi, S. Matsuba, Y. Sato, M. Ishimoto. 2005. Mapping of QTL associated with chilling tolerance during reproductive growth in soybean. *Theor. Appl. Genet.* 111: 851-861.

Hussain, S.S. 2006. Molecular breeding for abiotic stress tolerance: drought perspective. *Proc. Pak. Acad. Sci.* 43:189-210.

Ishitani, M., I. Rao, P. Wenzl, S. Beebe, J. Tohme. 2004. Integration of genomics approach with traditional breeding toward improving abiotic stress adaptation: drought and aluminium toxicity as case study. *Field Crop. Res.* 90:35-45.

La Muhuria. 2007. Mekanisme fisiologi dan pewarisan sifat toleransi kedelai (*Glycine max* L. (Merril) terhadap intensitas cahaya rendah. Disertasi. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Liu, B.H. 1998. Statistical Genomics: Linkage, Mapping, and QTL Analysis. CRC Press, Boca.

- Nurita, T.M., T. Hutabarat. 1997. Analysis of genetic integrity of banana plantlets from in vitro culture by random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Menara Perkebunan* 65:17-25.
- Roy, D. 2000. *Plant Breeding: Analysis and Exploitation of Variation*. Narosa Publishing House, Calcutta.
- Ruswandi, D., D.M. Hautea, A.L. Carpena, R.M. Lantican, A.M. Salazar, A.D. Raymundo. 2002. Quantitative trait loci mapping of Philippine downy mildew resistance gene in maize (*Zea mays* L.). *Zuriat* 13:27-34.
- Surahman, M. 2002. Peta genetik tanaman, prinsip dan aplikasinya. *Bul. Agron.* 30:27-30.
- Specht, J.E., K. Chase, M. Macrander, G.L. Graef, J. Chung, J.P. Markwell, M. Germann, J.H. Orf, K.G. Lark. 2001. Soybean response to water: a QTL analysis of drought tolerance. *Crop Sci.* 41:493-509.
- Sopandie, D., Trikoesoemaningtyas, E. Sulistyono, N. Heryani. 2003. Pengembangan Kedelai sebagai Tanaman Sela: Fisiologi dan Pemuliaan untuk Toleransi terhadap Naungan. Laporan Penelitian Hibah Bersaing. Dirjen Dikti.
- Taiz, L., E. Zeiger. 1991. *Plant Physiology*. The Benjamin/Cummings Pub. Co. Inc., California.
- Terry, L.I., K. Chase, T. Jarvic, J. Orf, L. Mansur, K.G. Lark. 2000. Soybean quantitative trait loci for resistance to insect. *Crop Sci.* 40:375-382.
- Tester, M., A. Bacic. 2005. Abiotic stress tolerance in grasses: From model plants to crops plants. *Plant Physiol.* 137:791-793.
- Wirnas, D. 2007. Pengembangan kriteria seleksi berdasarkan analisis kuantitatif dan molekuler bagi kedelai toleran intensitas cahaya rendah. Disertasi. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.