

Variasi Genetik dan Spektrum Virulensi Patogen Blas pada Padi Asal Jawa Barat dan Sumatera

Santoso¹, A. Nasution¹, D.W. Utami², I. Hanarida², A.D. Ambarwati²,
S. Moeljopawiro², dan D. Tharreau³

¹Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Sukamandi

²Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor

³CIRAD, UMR BGPI, TA73-09, 34398 Montpellier, Cedex 05, Perancis

ABSTRACT. Genetic Variation and Virulence Spectrum of Blast Pathogen (*Pyricularia grisea*) Collected from Rice Crop in West Java and Sumatra. The genetic and phenotypic variation of blast population in many endemic regions could contribute a lot in choosing appropriate isolates for genetic characterization and to propose strategies to breed variety for durable resistance to blast. We developed a study on genetic variation deduced from mating type and virulence gene and evaluation of the virulence spectrum of blast isolate from West Java and Sumatra. The experiment was conducted on May to June 2006 at Phytopathology Laboratory and green house of UMR BGPI, CIRAD, France. The aims of the research were to investigate the characteristics of blast isolate based on mating type and a virulent gene and to evaluate the virulence spectrum of blast isolate to isogenic lines containing different *Pi* resistance genes. The result showed that mating type *MAT 1.2* and virulence gene *PH19* were dominant in West Java and Sumatra. We found that ID31 was a specific isolate to IR64, while ID8, ID9, ID10 and ID14 were the isolates which had a wide virulence spectrum. The resistance gene of Fukunishiki (*Piz+sh*), C104 PKT (*Pi3*), K3 (*Pikh*), C101 LAC (*Pi1+1b+33*), Ou 244 (*Piz*), K60 (*Pikp*), Zenith Acc32558 (*Pia+z*), C101 A51 (*Pi2=z5*) and *Pi no4* (*Pita2*) could be used as a source of resistance gene in generating blast resistant rice variety, due to their resistance to all isolates.

Keywords: Blast, race, mating type, avr gene, virulence spectrum, resistance gene

ABSTRAK. Variasi genetik dan fenotipe populasi blas dari beberapa daerah endemik dapat memberikan sumbangan yang besar dalam pemilihan isolat yang sesuai untuk karakterisasi genetik dan berguna dalam perakitan varietas tahan blas yang *durable*. Untuk mengetahui karakteristik isolat blas berdasarkan tipe persilangan dan gen virulensi serta evaluasi spektrum virulensi isolat blas asal Jawa Barat dan Sumatera terhadap gen ketahanan *Pi* pada padi dilaksanakan penelitian pada bulan Mei sampai Juni 2006 di laboratorium fitopatologi dan rumah kaca UMR BGPI CIRAD Perancis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tipe persilangan *MAT 1.2* dan gen virulen *PH19* dominan di Jawa Barat dan Sumatera. Isolat ID31 merupakan isolat yang spesifik terhadap IR64. Isolat ID8, ID9, ID10, dan ID14 mempunyai spektrum virulensi yang luas. Gen ketahanan pada Fukunishiki (*Piz+sh*), C104 PKT (*Pi3*), K3 (*Pikh*), C101 LAC (*Pi1+1b+33*), Ou 244 (*Piz*), K60 (*Pikp*), Zenith Acc32558 (*Pia+z*), C101 A51 (*Pi2=z5*) dan *Pi no4* (*Pita*) dapat digunakan sebagai donor gen ketahanan dalam perakitan varietas tahan blas. Gen-gen ketahanan tersebut tahan terhadap semua isolat blas yang digunakan.

Kata kunci: Blas, ras, tipe persilangan, gen avr, spektrum virulensi, gen ketahanan

Penyakit blas yang disebabkan oleh cendawan *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. (sinonim *Pyricularia oryzae* Cavara) (Rossman *et al.* 1990)

adalah salah satu faktor pembatas produksi padi. Cendawan ini dapat merusak hampir semua bagian tanaman padi, yaitu daun, kolar daun, buku, leher malai, dan bulir padi (Chen 1993). Pada varietas yang rentan seperti PB36 dan PB50, intensitas serangan blas leher dapat mencapai 90% dan kehilangan hasil berkisar antara 50-90% (Amir & Kardin 1991).

Patogen blas mempunyai variasi patogenik yang tinggi di lapangan. Penyebab terbentuknya populasi patogen yang bersifat dinamis antara lain adalah adanya kemampuan dalam melakukan rekombinasi, baik secara aseksual maupun seksual (Zeigler 1998) dan adanya elemen transposon POT2 (Kachroo *et al.* 1994) dan MAGGY (Leong *et al.* 1994) dalam genom, sehingga memungkinkan terjadinya segregasi dan rekombinasi antarras patogen. Adanya elemen transposon MAGGY dapat menyebabkan ketidakstabilan genom dalam persilangan.

Pemantauan perkembangan populasi patogen blas di lapangan umumnya dilakukan berdasarkan reaksi virulensi pada satu set varietas diferensial (ras) atau menggunakan marka DNA (haplotipe). Dari identifikasi ras *P. grisea* di Sukabumi pada MT 1995-1998 didapatkan 25 ras, empat di antaranya yaitu ras 001, 003, 033, dan 173 adalah ras yang selalu ada pada setiap musim tanam (Amir *et al.* 2000). Hasil identifikasi berdasarkan sidik jari DNA patogen blas (pengelompokan haplotipe) diperoleh 16 kelompok haplotipe yang berbeda (ARBN 1997) dan delapan haplotipe dengan menggunakan primer spesifik gen virulensi *Pwl2*, *Erg2*, dan *Cut1* (Reflinur 2005).

Di Indonesia, karakterisasi patogen blas umumnya berdasarkan reaksi virulensi pada varietas diferensial atau dikenal dengan nama ras, sedangkan tipe persilangan (*mating type*) dan gen virulensinya masih jarang dilakukan. Adanya tipe persilangan adalah bukti bahwa patogen blas mempunyai kemampuan melakukan rekombinasi seksual di alam. Hal ini merupakan salah satu penyebab tingginya keragaman genetik patogen blas (Zeigler 1998). Oleh karena itu, karakter tipe persilangan pada populasi patogen blas merupakan faktor penting dalam penentuan variasi genetik.

Tanaman mempunyai mekanisme pertahanan yang spesifik terhadap patogen. Mekanisme tersebut dapat berupa respon hipersensitif, yaitu sel atau jaringan yang tertular menjadi cepat mati, sehingga penularan patogen dapat dilokalisasi (Hammond-Kosack & Jones 1996). Pengenalan patogen oleh tanaman yang tahan dikontrol oleh gen ketahanan yang terdapat pada tanaman dan gen avirulen yang terdapat pada patogen melalui jalur signal transduksi yang mengaktifkan sistem pertahanan tanaman (Baker *et al.* 1997).

Gen ketahanan penyakit blas (*Pi*) memberikan reaksi yang spesifik dengan patogen blas yang menginfeksi tanaman (Ou 1985). Salah satu gen avirulen patogen blas yang sudah dikarakterisasi adalah *ACE1* yang telah diketahui memberikan reaksi spesifik terhadap gen ketahanan tanaman padi, *Pi33* (Berruyer *et al.* 2003). Interaksi antara gen ketahanan dan patogen blas perlu diketahui untuk dijadikan dasar dalam perakitan varietas baru tahan blas, dan menentukan varietas tahan yang spesifik lokasi dengan komposisi patogen blas yang berkembang di lokasi tersebut.

Penelitian bertujuan untuk mengetahui karakteristik isolat blas berdasarkan tipe persilangan dan gen avirulen serta evaluasi spektrum virulensi isolat blas asal Jawa Barat dan Sumatera terhadap gen ketahanan *Pi*. Kedua daerah ini merupakan daerah endemik penyakit blas.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juni 2006 di laboratorium fitopatologi dan rumah kaca UMR BGPI CIRAD Perancis. Penelitian terdiri atas dua kegiatan, yaitu karakterisasi isolat blas dan evaluasi spektrum virulensi isolat blas terhadap gen ketahanan *Pi*. Penelitian ini merupakan bagian dari kegiatan The training course on characterization of Indonesia blast pathogen population and resistance spectrum evaluation of new lines *Pif 2-1(t)* and *Pir 2-3(t)*.

Karakterisasi Isolat Blas

Sebanyak 17 isolat yang digunakan terdiri atas delapan isolat asal Jawa Barat dan sembilan isolat asal Sumatera (Tabel 1), koleksi laboratorium fitopatologi Balai Besar Penelitian Tanaman Padi yang telah diketahui rasnya. Karakterisasi isolat dilakukan terhadap sifat tipe persilangan dan gen avirulen (*avr gene*).

Penentuan tipe persilangan dilakukan dengan cara menyilangkan isolat blas dengan tester hermiprodit dan secara PCR, sebagai berikut:

1. Tipe persilangan menggunakan tester hermiprodit. Penentuan tipe persilangan dilakukan dengan menyilangkan isolat yang belum diketahui dengan empat tester hermiprodit (KA3 dan TH12; MAT1.1; GUY11; dan TH16; MAT1.2) dalam cawan petri berisi media tepung beras (tepung beras 20 g, ekstrak ragi 2,5 g, agar 15 g, air 1 l, dan penisillin 500.000 UI ditambahkan setelah sterilisasi). Cawan petri tersebut diinkubasikan pada suhu 25°C selama 3 hari, kemudian ditempatkan selama 18 hari dengan penyinaran flouresen pada suhu 20°C. Pembentukan peritesium diamati 21 hari setelah koinokulasi di media. Penentuan jantan, betina, dan hermiprodit dilakukan berdasarkan tatanama Itoi *et al* (1983).
2. Tipe persilangan menggunakan PCR. DNA genom total cendawan blas diisolasi dengan menggunakan larutan CTAB/NaCl mengikuti metode IRR1 (1994) yang telah dimodifikasi. Pasangan primer yang digunakan adalah A1 (5'-AGCCTCATCAACGGCA-3') dan A5 (5'-GGCACGAACATGCGATG-3') untuk MAT 1.1, B15 (5'-CTCAATCTCCGT AGTAG-3') dan B16 (5'-ACAGCAGTATAGCCTAC-3') untuk MAT 1.2. Produk PCR yang diharapkan adalah 372 bp untuk MAT 1.1 dan 376 bp untuk MAT 1.2. Primer yang digunakan sebanyak 1 µl dengan konsentrasi 50 ng/µl, 2,5 µl DNA 10 ng/µl, 2 µl dNTP 50mM, 2 µl 10x bufer, 0,8 µl MgCl₂ 50mM, 0,2 µl 0,5 U *Taq* DNA polymerase, kemudian ditambahkan air steril hingga volume menjadi 20 µl.

Sampel dilapisi dengan 1 µl mineral oil, kemudian dilakukan PCR dengan kondisi sebagai berikut: satu siklus pada suhu 95°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 30 siklus selama 1 menit pada suhu 95°C, 2 menit pada suhu 60°C, dan 2 menit pada suhu 72°C,

Tabel 1. Asal dan jenis ras blas dari Jawa Barat dan Sumatera.

Asal	Tahun	No. isolat	Asal varietas	Ras
Kuningan	2003	ID15	Gilirang	001
		ID21	Maro	101
Subang	2003	ID16	C22	003
		ID18	C22	031
Cianjur	2003	ID25	IR64	211
		ID26	IR64	263
		ID28	IR64	341
Sukabumi	2003	ID27	BP206D-KN-51-PN-1-1-3	333
Lampung	2003	ID17	Cirata	023
		ID23	Cirata	133
		ID24	Cirata	173
	2004	ID19	Cirata	033
		ID20	Cirata	041
		ID22	Cirata	123
		ID29	Cirata	073
Sumatera Selatan	2005	ID30	IR70215-CPA-2-1-B-1-2	063
		ID31	IR70215-CPA-2-1-B-1-2	141

diikuti oleh satu siklus selama 5 menit pada suhu 72°C untuk MAT 1.1, dan satu siklus selama 5 menit pada suhu 95°C, dilanjutkan dengan 30 siklus selama 1 menit pada suhu 95°C, 2 menit pada suhu 55°C, 2 menit pada suhu 72°C, diikuti satu siklus selama 5 menit pada suhu 72°C untuk MAT1.2. Produk amplifikasi dielektroforesis pada 1% gel agaros dalam TBE (Tris-boric acid-edta) 0,5X. Migrasi dilakukan pada 130W selama 90 menit. DNA 1-kb ladders digunakan sebagai marker.

Distribusi gen avirulen (*ACE1*) ditentukan berdasarkan PCR dengan menggunakan primer spesifik alel *ACE1*. Alel *ACE1-avr* secara spesifik diamplifikasi menggunakan pasangan primer Guy11-X438+ (5'-GTTTCCGACACTTT GC GCCC-3') dan Guy11-iIO-(5'-GAGCCGACGTAGAG TTTTGGG-3'). Alel *ACE1-vir1* diamplifikasi dengan pasangan primer CM28-X438+ (5'-TTTCCCGACCTACTTT GCACCG-3') dan CM28-iIO- (5'-GACCCACGTA CAGTTTGGCA- 3'). Genotipe *ACE1-vir2* dikarakterisasi dengan pasangan primer CM28 dan Guy11. Isolat dinyatakan sebagai genotipe *ACE1-vir2* jika teramplifikasi pada kedua primer tersebut. Isolat yang telah diketahui sebagai genotipe *ACE1* digunakan sebagai kontrol (CM28, *ACE1-vir1*; PH19, *ACE1-vir2*; GY11, *ACE1-avr*).

Pasangan primer yang digunakan adalah sebanyak 1 µl dengan konsentrasi 5 µM, 2,5 µl DNA 10 ng/µl, 1 µl dNTP, 2,5 µl bufer, 0,1 µl *Taq* DNA polymerase. Program standar untuk *ACE1* dilakukan dengan menggunakan mesin PTC-100 MJ-Research PCR pada kondisi: satu siklus selama 5 menit pada suhu 94°C dan 30 siklus selama 1 menit pada suhu 94°C, 1 menit 30 detik pada suhu 64°C, 1 menit 30 detik pada suhu 72°C, kemudian diikuti satu siklus selama 5 menit pada suhu 72°C. Ukuran produk yang diharapkan adalah 700 bp. Produk amplifikasi dielektroforesis pada 1,4% gel agaros dalam TBE. Migrasi dilakukan pada daya 150W selama 60 menit. DNA 1-kb ladders digunakan sebagai marker.

Evaluasi Spektrum Virulensi Isolat Blas terhadap Gen Ketahanan *Pi*

Persiapan Tanaman

Tanaman yang digunakan sebanyak 30 kultivar, termasuk Maratelli sebagai kontrol rentan padi Japonica dan CO39 sebagai kontrol rentan padi Indica. Tanaman padi ditumbuhkan di rumah kaca, pada baki ukuran 40 cm x 29 cm x 7 cm yang telah diisi kompos (7/8 *neuhaus compost* no. 9; 1/8 *pouzzolane*). Masing-masing baki berisi 16 kultivar. Sebanyak 10-15 benih dari masing-masing kultivar ditumbuhkan dalam barisan. Tanah diusahakan tetap basah dengan cara melakukan penyiraman, selanjutnya satu kali dalam seminggu

diberikan larutan nutrisi. Pemupukan sebanyak 8,6 g nitrogen per baki diberikan pada saat 10, 3, dan 1 hari sebelum inokulasi untuk meningkatkan kerentanan terhadap blas.

Persiapan Isolat, Inokulasi, dan Analisis Virulensi

Sebanyak 24 isolat blas yang terdiri atas 13 isolat asal Sukarami, Sumatera Barat, yang merupakan koleksi CIRAD (ID1, ID2, ID4, ID5, ID6, ID7, ID8, ID9, ID10, ID11, ID12, ID 13 dan ID14) dan 11 isolat asal Jawa Barat, Lampung, dan Sumatera Selatan yang merupakan koleksi Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (ID15, ID16, ID17, ID18, ID19, ID21, ID22, ID23, ID27, ID29 dan ID31), digunakan dalam percobaan ini. Isolat blas koleksi CIRAD merupakan hasil isolasi pada tahun 1990 dan 1991, sedangkan koleksi Balai Besar Penelitian Tanaman Padi hasil isolasi pada tahun 2003, 2004, dan 2005. Isolat blas ditumbuhkan pada media tepung beras pada suhu 25°C dengan siklus gelap-terang 12 jam. Masing-masing baki diinokulasi dengan 30 ml suspensi konidia dengan konsentrasi 50.000 konidia/ml dan 0,5% gelatin, pada saat bibit padi berumur 3-4 minggu setelah tanam (4-5 daun) dengan cara penyemprotan. Tanaman yang telah diinokulasi diinkubasikan pada ruang embun dengan suhu 24°C dan kelembaban 95% selama 16 jam. Penilaian penyakit dan analisis virulensi menggunakan skala klas 6 (Silue *et al.* 1992). Analisis kelompok atau fenogram dilakukan dengan menggunakan program Darwin 4,0 (Perrier *et al.* 2003).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Isolat Blas

Tipe Persilangan

Tipe persilangan isolat blas dengan menggunakan tester hermaprodit tidak dapat ditentukan karena isolat blas yang digunakan tidak menghasilkan peritesium. Hal ini diduga karena isolat blas yang digunakan mempunyai tingkat fertilitas yang rendah atau steril, sehingga tidak menghasilkan peritesium ketika disilangkan dengan tester hermaprodit fertil. Fertilitas yang tinggi umumnya dijumpai pada isolat blas yang diperoleh dari bukan padi (Yaegashi & Nishihara 1976). Isolat blas yang diperoleh dari padi umumnya menunjukkan jantan fertil (Silue *et al.* 1992).

Hasil penentuan tipe persilangan secara PCR menunjukkan bahwa 15 isolat blas yang diuji mempunyai tipe perjodohan MAT 1.2, sedangkan isolat ID 26 dan ID 28 asal Cianjur Jawa Barat tidak dapat ditentukan tipe persilangannya karena tidak ada produk yang ter-

amplifikasi, baik pada primer MAT 1.1 maupun MAT 1.2. Penelitian Yaegashi & Yamada (1986) menunjukkan bahwa 27 isolat *P. grisea* yang berasal dari Jawa Barat dan Sumatera Barat mempunyai tipe persilangan *a*.

Penentuan tipe persilangan secara PCR sangat berguna untuk patogen blas yang mempunyai tingkat fertilitas yang rendah atau steril (Xu & Hamer 2006). Dibandingkan dengan tester hermaprodit, kelemahan penggunaan PCR adalah hanya untuk mengetahui tipe persilangan tetapi tidak mampu menentukan jantan, betina, atau hermaprodit. Adanya tipe persilangan membuktikan bahwa patogen blas mempunyai kemampuan melakukan rekombinasi seksual di alam dan menjadi penentu tingginya tingkat keragaman genetik patogen blas (Zeigler 1998).

Gen Avirulen (*ACE1*)

Ketahanan tanaman padi terhadap patogen blas bergantung pada interaksi spesifik yang dikendalikan oleh gen avirulen dan berhubungan dengan gen ketahanan tanaman. Isolat blas dari Jawa Barat mempunyai genotipe GY11 (*avr*), CM28 (*vir1*), dan PH19 (*vir2*). Di Kuningan didapatkan genotipe PH19 dan GY11 (Tabel 2). Genotipe GY11 (*avr*) berinteraksi dengan gen ketahanan *Pi33* (Berruyer *et al.* 2003). Di Subang dan Cianjur hanya ditemukan genotipe PH19, sedangkan di Sukabumi genotipe CM28.

Isolat blas dari Sumatera umumnya mempunyai genotipe CM28 dan PH19. Di Lampung didapatkan kedua genotipe tersebut, sedangkan di Sumatera Selatan hanya ditemukan genotipe CM28. Genotipe PH19 dominan ditemukan di Jawa Barat maupun Sumatera. Dari 17 isolat blas yang digunakan, 11 di antaranya merupakan genotipe PH19.

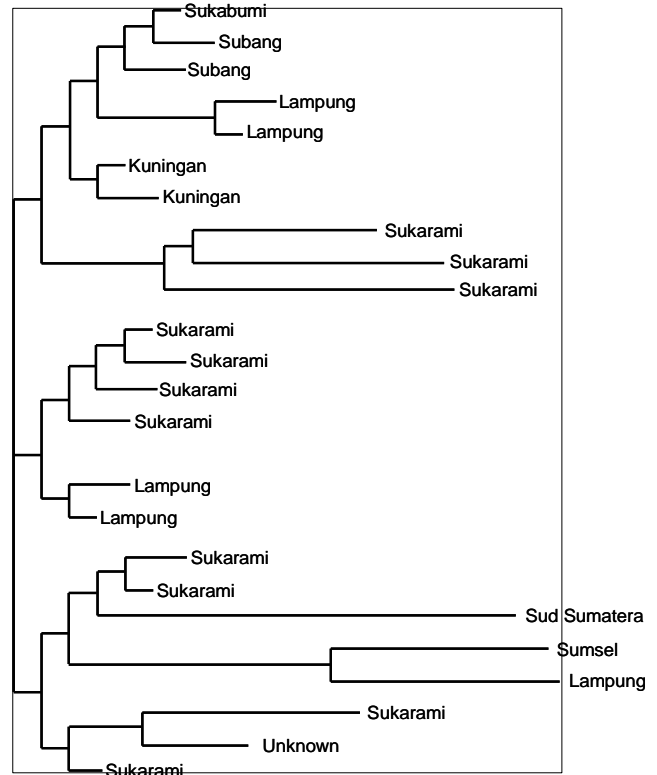
Tabel 2. Ras dan genotipe *ACE1* isolat blas asal Jawa Barat dan Sumatera.

Asal	Tahun	No. isolat	Ras	Genotipe <i>ACE1</i>
Kuningan	2003	ID15	001	PH19 (<i>vir2</i>)
		ID21	101	GY11 (<i>avr</i>)
Subang	2003	ID16	003	PH19 (<i>vir2</i>)
		ID18	031	PH19 (<i>vir2</i>)
Cianjur	2003	ID25	211	PH19 (<i>vir2</i>)
		ID26	263	PH19 (<i>vir2</i>)
		ID28	341	PH19 (<i>vir2</i>)
Sukabumi	2003	ID27	333	CM28 (<i>vir1</i>)
Lampung	2003	ID17	023	PH19 (<i>vir2</i>)
		ID23	133	PH19 (<i>vir2</i>)
		ID24	173	PH19 (<i>vir2</i>)
	2004	ID19	033	PH19 (<i>vir2</i>)
		ID20	041	CM28 (<i>vir1</i>)
		ID22	123	PH19 (<i>vir2</i>)
		ID29	073	PH19 (<i>vir2</i>)
Sumatera Selatan	2005	ID30	063	CM28 (<i>vir1</i>)
		ID31	141	CM28 (<i>vir1</i>)

Spektrum Virulensi Isolat Blas terhadap Gen Ketahanan *Pi*

Analisis pengelompokan berdasarkan virulensi isolat blas terhadap kultivar (gen ketahanan) menunjukkan bahwa isolat blas berada pada kelompok yang sama menurut asal lokasi isolat. Isolat blas yang berasal dari Sumatera mempunyai kecenderungan mengelompok pada kelompok yang sama, sedangkan isolat blas asal Jawa Barat membentuk kelompok sendiri (Gambar 1). Isolat-isolat blas asal Sukarami koleksi CIRAD mengelompok pada kelompok yang sama, sedangkan isolat-isolat asal Lampung dan Sumatera Selatan koleksi Balai Besar Penelitian Tanaman Padi membentuk kelompok sendiri. Isolat blas koleksi CIRAD merupakan hasil isolasi pada tahun 1990 dan 1991, sedangkan koleksi Balai Besar Penelitian Tanaman Padi hasil isolasi pada tahun 2003, 2004, dan 2005. Diduga, pengelompokan isolat blas selain dipengaruhi oleh geografi asal isolat juga dipengaruhi oleh saat dilakukan isolasi.

Isolat blas yang diuji mempunyai spektrum virulensi yang beragam terhadap gen ketahanan *Pi*. Isolat ID31 hanya virulen terhadap kultivar IR64 dan avirulen terhadap semua kultivar yang digunakan, termasuk kontrol rentan Maratelli dan CO39 (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa ID31 merupakan isolat blas yang spesifik terhadap IR64.



Gambar 1. Pengelompokan isolat blas (asal isolat) berdasarkan virulensi terhadap gen ketahanan *Pi*.

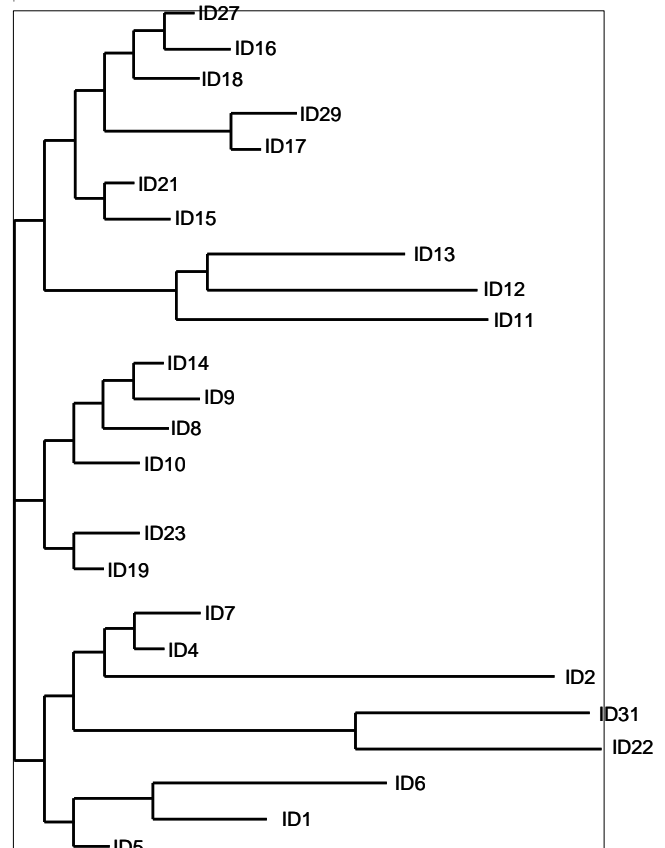
Tabel 3. Spektrum virulensi isolat blas asal Jawa Barat dan Sumatera.

Jumlah gen virulen	Isolat blas	Gen virulen berhubungan dengan gen <i>Pi</i>
1	ID31	IR64
2	ID22	Pi-ta ² , IR64
	ID2	Pi-ta (K1), Pi-33 (Bala)
3	ID11	Pi-33 (IR1529), Pi-a+19, CO39
5	ID12	Pi-?, Pi-ta+4b, Pi-a+19, Pi-ta (C101PKT), CO39
6	ID4	Pi-i+ks, Pi-ks+sh, Maratelli, Pi-t, CO39, Pi-33 (Bala)
	ID7	Pi-i+ks, Pi-k, Maratelli, Pi-t, CO39, Pi-33 (Bala)
	ID29	Pi-33 (IR1529), Pi-?, Maratelli, Pi-t, CO39, IR64
7	ID15	Pi-33 (IR1529), Pi-a+19, Pi-ks+sh, Maratelli, Pi-t, Pi-ta (C101PKT), CO39
	ID17	Pi-33 (IR1529), Pi-a+19, Nipponbare, Maratelli, Pi-t, CO39, IR64
	ID21	Pi-33 (IR1529), Pi-a+19, Maratelli, Pi-t, Pi-ta (C101PKT), CO39, Pi-33 (Bala)
8	ID6	Pi-i+ks, Pi-k, Pi-ks+sh, Maratelli, Pi-t, Pi-ta (C101PKT), CO39, NP125Acc32559
9	ID5	Pi-?, Pi-a+19, Pi-i+ks, Pi-ks+sh, Maratelli, Pi-t, Pi-ta (C101PKT), CO39, Pi-33 (Bala)
	ID16	Pi-33 (IR1529), Pi-a+19, Pi-b, Pi-ks+sh, Maratelli, Pi-t, CO39, Pi-33 (Bala), IR64
	ID18	Pi-33 (IR1529), Pi-a+19, Pi-i+ks, Pi-ks+sh, Maratelli, Pi-t, CO39, Pi-33 (Bala), IR64
10	ID19	Pi-33 (IR1529), Pi-?, Pi-ta+4b, Pi-a+19, Maratelli, Pi-t, Pi-ta (C101PKT), CO39, Pi-33 (Bala), IR64
	ID23	Pi-33 (IR1529), Pi-?, Pi-ta+4b, Pi-a+19, Maratelli, Pi-t, Pi-ta (C101PKT), Pi-ta (K1), CO39, IR64
	ID27	Pi-33 (IR1529), Pi-?, Pi-b, Pi-i+ks, Pi-ks+sh, Maratelli, Pi-t, CO39, Pi-33 (Bala), IR64
11	ID1	Pi-1, Pi-?, Pi-a+19, Pi-1+ks, Pi-k, Pi-kp+a, Pi-ks+sh, Maratelli, Pi-t, Pi-ta (C101PKT), CO39
12	ID13	Pi-33 (IR1529), Pi-?, Pi-ta+4b, Pi-a+19, Pi-b, Pi-f, Nipponbare, Pi-ta (C101PKT), Pi-ta (K1), Pi-zt, CO39, Pi-33 (Bala)
13	ID10	Pi-33 (IR1529), Pi-?, Pi-ta+4b, Pi-a+19, Pi-i+ks, Pi-ks+sh, Maratelli, Pi-t, Pi-ta (C101PKT), Pi-ta (K1), CO39, Pi-33 (Bala), IR64
	ID14	Pi-33 (IR1529), Pi-?, Pi-ta+4b, Pi-a+19, Pi-b, Pi-i+ks, Pi-ks+sh, Maratelli, Pi-t, Pi-ta (C101PKT), CO39, Pi-33 (Bala), IR64
14	ID8	Pi-33 (IR1529), Pi-?, Pi-ta+4b, Pi-a+19, Pi-i+ks, Pi-ks+sh, Maratelli, Pi-t, Pi-ta (C101PKT), Pi-ta (K1), Pi-zt, CO39, Pi-33 (Bala), IR64
15	ID9	Pi-33 (IR1529), Pi-?, Pi-ta+4b, Pi-a+19, Pi-b, Pi-i+ks, Nipponbare, Maratelli, Pi-t, Pi-ta (C101PKT), Pi-ta (K1), Pi-zt, CO39, Pi-33 (Bala), IR64

Isolat ID22 virulen terhadap kultivar Pi n^o4 (*Pita*²) dan IR64, sedangkan terhadap kultivar lainnya avirulen. Gen ketahanan *Pi* mempunyai reaksi yang spesifik dengan patogen blas yang menginfeksi tanaman (Ou 1985). Isolat ID8, ID9, ID10, dan ID14 mempunyai spektrum virulensi yang luas, masing-masing virulen terhadap 14, 15, 13, dan 13 kultivar. ID9 virulen terhadap kultivar IR1529 (*Pi33*), C101TTP-6 (*Pi ?*), C105TTP-4L23 (*Pita+4b*), Aichi Asahi (*Pia+19*), BL1 (*Pib*), Fujisaka No.5 (*Pii+ks*), Nipponbare, Maratelli, K59 (*Pit*), C101PKT (*Pita*), K1 (*Pita*), Toride 1 (*Pizt*), CO39, Bala (*Pi33*), dan IR64.

Pengelompokan isolat blas berdasarkan spektrum virulensi (Gambar 2) berguna untuk evaluasi ketahanan kultivar padi terhadap penyakit blas. Untuk evaluasi tersebut dapat digunakan salah satu isolat blas yang mewakili kelompoknya.

Beberapa kultivar dengan gen ketahanan *Pi* tertentu menunjukkan respon tahan terhadap isolat blas asal Jawa Barat dan Sumatera. Semua isolat blas avirulen terhadap kultivar dengan gen ketahanan Fukunishiki (*Piz+sh*), C104 PKT (*Pi3*), K3 (*Pikh*), C101 LAC

Gambar 2. Pengelompokan isolat blas berdasarkan virulensi terhadap gen ketahanan *Pi*.

(*Pil+1b+33*), Ou 244 (*Piz*), K60 (*Pikp*), Zenith Acc32558 (*Pia+z*), dan C101 A51 (*Pi2=z5*). Kultivar Pi n^o4 (*Pita*²) hanya menunjukkan respon rentan terhadap isolat blas ID22. Dengan demikian kultivar dengan gen ketahanan *Pi* tersebut masih efektif terhadap isolat-isolat blas, terutama yang berasal dari Jawa Barat dan Sumatera. Gen-gen ketahanan ini dapat digunakan sebagai sumber gen ketahanan dalam perakitan varietas tahan blas, terutama untuk Jawa Barat dan Sumatera.

KESIMPULAN DAN SARAN

MAT 1.2 dan genotipe *PH19 (vir2)* merupakan tipe persilangan dan gen virulen yang dominan di Jawa Barat dan Sumatera. Isolat ID31 spesifik terhadap IR64. Isolat ID8, ID9, ID10, dan ID14 mempunyai spektrum virulensi yang luas.

Kultivar dengan gen ketahanan Fukunishiki (*Piz+sh*), C104 PKT (*Pi3*), K3 (*Pikh*), C101 LAC (*Pil+1b+33*), Ou 244 (*Piz*), K60 (*Pikp*), Zenith Acc32558 (*Pia+z*), C101 A51 (*Pi2=z5*), dan Pi n^o4 (*Pita*²) dapat digunakan sebagai sumber gen ketahanan dalam perakitan varietas tahan blas, terutama untuk Jawa Barat dan Sumatera.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Proyek Penelitian RUTI IV atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti training singkat di CIRAD, Jöelle Milazzo atas dukungan teknik selama pelaksanaan penelitian, dan CIRAD yang telah memberikan dukungan sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

Amir, M. dan M.K. Kardin. 1991. Pengendalian penyakit jamur. p. 825-844. *In*. E. Soenarjo, D.S. Damardjati, dan M. Syam (*Eds.*) Padi. Jilid 3. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor.

Amir, M., A. Nasution, dan Santoso. 2000. Inventarisasi ras *P. grisea* di daerah Sukabumi Jawa Barat musim tanam 1995-1998. *Prosiding Kongres Nasional XV*. PFI. Purwokerto. p. 148-151.

ARBN. 1997. Population genetic of important rice pathogens and crop improvement of rice in Indonesia. *In*: A completion report ARBN-CRIFC, Bogor, Indonesia.

Baker, B., P. Zambryski, B. Staskawics, and S.P. Dinesh-Kumar. 1997. Signaling in plant-microbe interactions. *Science* 276: 726-733.

Berruyer, R., H. Adreit, J. Milazzo, S. Gaillard, A. Berger, W. Dioh, M.H. Lebrun, and D. Tharreau. 2003. Identification and fine mapping of *Pi33*, the rice resistance gene corresponding to the *Magnaporthe grisea* avirulence gene *ACE1*. *Theoretical and Applied Genetic* 107:1139-1147.

Chen, D. 1993. Population structure of *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. In two screening site and quantitative characterization of major and minor resistance genes. A thesis doctor of philosophy. University of the Philippines at Los Banos. p.161.

Hammond-Kosack, K.E. and G.D. Jones. 1996. Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell* 8:1773-1791.

IRRI. 1994. Protocol for DNA typing of the blast fungus pathogen *Pyricularia grisea*. Mol. plant pathology laboratory. entomology and pathology division. The International Rice Research Institute. p. 23.

Itoi, S., T. Mishima, S. Arase, and M. Nozu. 1983. Mating behavior of Japanese of *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 73:155-158.

Kachroo, P., S.A. Leong, and B.B. Chattoo. 1994. *Pot2*, an inverted repeat transposon from the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Mol. Gene Genet.* 245:39-348.

Leong, SA., M. Farman, J. Smith, A. Budde, Y. Tosa, and N. Nitta. 1994. Molecular genetic approach to the study of cultivar specificity in the rice blast fungus. p. 167-186. *In*. R.S. Zeigler, S.A. Leong, and P.S. Teng (*Eds.*) Rice blast disease. IRRI. Manila. Philippines.

Ou, S.H. 1985. Rice blast disease. 2nd ed. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey. England. 380 p.

Perrier, X., A. Flori, and F. Bonnot. 2003. Data analysis methods. *In*: P. Hamon, M. Seguin, X. Perrier, J.C. Glaszmann (*Eds.*) Genetic diversity of cultivated tropical plants. Enfield, Science Publishers. Montpellier. p.43-76.

Reflinur. 2005. Keragaman genetik cendawan *Pyricularia grisea* berdasarkan primer spesifik gen virulensi dan interaksinya dengan gen ketahanan padi. Tesis. Institut Pertanian Bogor.

Rossmann, A.Y., R.J. Howard, and B. Valent. 1990. *Pyricularia grisea*, the correct name for the rice blast disease fungus. *J. Mycologia* 82:509-512.

Silue, D., D. Tharreau, and J.L. Nottoghem. 1992. Identification of *Magnaporthe grisea* avirulence genes to seven rice cultivars. *Phytopathology* 82:1462-1467.

Xu, J.R. and J.E. Hamer. 2006. Assessment of *Magnaporthe grisea* mating type by spore PCR. <http://www.google.co.id> 14 September 2006.

Yaegashi, H. and N. Nishihara. 1976. Production of the perfect stage in *Pyricularia* from cereals and grasses. *Ann. Phytopathol.* 42:511-515.

Yaegashi, H. and M. Yamada. 1986. Pathogenic race and mating type of *Pyricularia oryzae* from Soviet Union, China, Nepal, Thailand, Indonesia and Colombia. *Ann. Phytopath.* 52:225-234.

Ziegler, R.S. 1998. Recombination in *Magnaporthe grisea*. *Ann. Phytopathology* 36:249-275.