

Pengelompokan Isolat *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dengan Menggunakan Galur Isogenik Padi IRRI

(Grouping of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Isolates Using IRRI Near-Isogenic Lines of Rice)

HARTINI R. HIFNI¹* DAN M. KOSIM KARDIN²

¹Balai Penelitian Padi, Jalan Cimanggu Kecil No. 8, Bogor 16111

²Balai Penelitian Tanaman Hias, Jalan Tentara Pelajar No. 12, Bogor 16111

Diterima 27 April 1998/Disetujui 19 Agustus 1998

Using IRRI rice near-isogenic lines, 106 isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) isolated from diseased plants from Bekasi and Karawang Districts in the dry season of 1994 were separated into 12 pathotypes. All of them could be regarded as complex pathotypes. The simplest pathotype (pathotype I) has at least three genes for virulence to overcome Xa-1, Xa-11, and Xa-14 resistance genes, respectively. Pathotype V, the most dominant pathotype (46.23%), has at least seven virulence genes to overcome Xa-1, Xa-2, Xa-3, Xa-4, Xa-10, Xa-11, and Xa-14, while the most virulent one (pathotype XII) has at least 10 virulence genes to overcome Xa-1, Xa-2, Xa-3, Xa-4, Xa-5, Xa-7, Xa-10, Xa-11, Xa-14, and Xa-21. With the exception of pathotypes I and II, which were only detected from IR 64 in a location with the irrigation scheme IV, the distribution of Xoo pathotypes were not affected by rice cultivars and the irrigation scheme/ planting time in each location. Out of ten resistance genes used in this study, only xa-5, Xa-7, and Xa-21 are relatively effective against the majority of the Xoo isolates, so that these resistance genes can be incorporated into our rice breeding program. Since Xoo pathotype having the ability to overcome the combination of these resistance genes already occurred in nature, however, xa-5, Xa-7, and Xa-21 should not be used in a gene pyramiding fashion. Due to the lower percentage of Xoo pathotypes having the ability to overcome Xa-7, we postulated that the addition of virulence genes to overcome Xa-7 occurred after the integration of virulence genes to overcome xa-5 and Xa-21 into the Xoo population.

PENDAHULUAN

Hawar daun bakteri yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Ishiyama) Dye merupakan salah satu penyakit terpenting pada pertanaman padi sawah di Indonesia (Kardin & Hifni 1993) dan di negara produsen beras lainnya (Ou 1985). *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) mempunyai banyak patotipe sehingga untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri dengan menggunakan kultivar yang tahan, pemantauan pergeseran patotipe dan pencarian sumber ketahanan baru harus terus dilakukan dalam menunjang program pemuliaan padi yang berkesinambungan.

Di masa lampau pemantauan patotipe Xoo di Indonesia dilakukan dengan menggunakan metode Kozaka yang sudah dimodifikasi (Yamamoto et al. 1977). Di Indonesia mula-mula berhasil diidentifikasi tiga patotipe Xoo. Patotipe III mempunyai penyebaran yang paling luas sehingga digunakan untuk mengevaluasi galur harapan sebelum dilepas menjadi kultivar baru. Horino & Hifni (1978), Hifni (1986) kemudian mengidentifikasi tiga patotipe Xoo lainnya. Sampai saat ini ada 11 patotipe Xoo yang sudah teridentifikasi dengan menggunakan sistem Kozaka (data tidak dipublikasi). Hifni (1986), Surjadi & Machmud (1987) melaporkan bahwa patotipe Xoo yang dominan telah berubah sehingga seleksi plasma nutfah padi serta evaluasi galur harapan akhirnya ditujukan untuk memperoleh kultivar yang tahan terhadap patotipe IV.

Ogawa et al. (1991) berhasil merakit galur isogenik dengan menggunakan padi kultivar IR 24 sebagai recurrent parent. Galur isogenik tersebut bermanfaat untuk memantau perubahan komposisi patotipe Xoo di suatu daerah (Ogawa 1993) dan telah digunakan oleh Noda et al. (1996) dalam memantau penyebaran geografi patotipe Xoo pada tahun 1991 dan 1993 di Jepang.

Dengan menggunakan galur isogenik identitas dan jumlah gen ketahanan yang terdapat pada kultivar diferensial dan berperan sebagai pembeda patotipe Xoo dapat diketahui dengan lebih saksama karena galur isogenik mempunyai latar belakang genetika yang lebih seragam. Dengan berasumsi bahwa hubungan patotipe Xoo dan kultivar padi mengikuti pola gen ke gen, maka jumlah dan komposisi gen virulen pada masing-masing patotipe Xoo pun dapat diketahui dengan baik. Informasi ini sangat bermanfaat dalam mempelajari hubungan kekerabatan antarpatotipe Xoo serta arah dan tahap perubahan patotipe Xoo yang terjadi di alam sehingga dapat lebih mengarahkan program pemuliaan padi, khususnya dalam memilih dan menggunakan gen ketahanan terhadap Xoo agar keefektifannya dapat lestari (durable resistance). Informasi seperti ini tidak dapat diperoleh bila kita mengelompokkan patotipe Xoo dengan menggunakan metode Kozaka.

Sebagai langkah awal telah dicoba galur isogenik 10 padi untuk mengelompokkan 106 isolat Xoo yang berasal dari Kabupaten Karawang dan Bekasi. Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi yang lebih teliti mengenai pengelompokan patotipe Xoo, jumlah dan komposisi

* Penulis untuk korespondensi

gen virulen yang dipunyai oleh masing-masing patotipe, serta hubungan kekerabatan, arah, dan tahap perubahan patotipe Xoo. Penelitian ini diharapkan pula dapat mengidentifikasi gen ketahanan yang masih efektif berikut rekomendasi cara penggunaan gen ketahanan tersebut dalam program pemuliaan padi di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Bahan. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* sebanyak 106 isolat berasal dari koleksi pada musim kemarau 1994. Isolat Xoo tersebut dikumpulkan dari berbagai lokasi di Kabupaten Karawang dan Bekasi yang mempunyai golongan air yang berbeda (golongan air I-IV). Isolasi dan penentuan patotipe Xoo dilaksanakan di laboratorium dan rumah-kaca pada tahun 1994 - 1996.

Sepuluh galur isogenik padi yang digunakan ialah IR-BB 1, IR-BB 2, IR-BB-3, IR-BB 4, IR-BB 5, IR-BB 7, IR-BB 10, IR-BB 11, IR-BB 14, dan IR-BB 21, yang masing-masing mengandung satu gen ketahanan yang berbeda terhadap Xoo, yaitu Xa-1, Xa-2, Xa-3, Xa-4, xa-5, Xa-7, Xa-10, Xa-11, Xa-14, dan Xa-21 (Ogawa *et al.* 1991). Benih padi berupa galur isogenik diperbanyak di rumah kaca. Untuk memelihara kemurnian benih, setiap malai yang tumbuh segera dibungkus dengan kantong kertas. Sebagian benih yang diperoleh ditanam kembali untuk memperbanyak benih siklus berikutnya, sedangkan sebagian lagi digunakan untuk mengidentifikasi patotipe Xoo.

Uji Patotipe. Benih padi berupa galur isogenik disemaikan dalam bak plastik berukuran 26.5 cm x 33.0 cm x 5.0 cm, dan dipupuk dengan Urea, TSP, dan KCl masing-masing sebanyak 50 g/bak. Setiap bak plastik mempunyai satu set galur isogenik yang ditanam dalam barisan (satu galur/baris), dan setiap baris terdiri atas 15 tanaman. Tanaman tersebut diinokulasi setelah berumur 30 hari dengan cara penggantungan. Setiap isolat Xoo diinokulasikan ke satu set galur isogenik padi. Pengamatan dilakukan dua kali, yaitu pada satu dan dua minggu setelah inokulasi dengan menggunakan metode IRRI (1993). Pengujian dilakukan secara bertahap. Dalam setiap tahap hanya dapat diuji sekitar 20 isolat Xoo. Bila isolat Xoo menunjukkan virulensi yang tidak konsisten pada salah satu galur isogenik, maka isolat tersebut diuji kembali pada seri berikutnya. Data dianalisis dengan menggunakan program dBase III.

HASIL

Pengelompokan Patotipe *X. oryzae* pv. *oryzae*. Berdasarkan pola virulensi terhadap 10 galur isogenik padi asal IRRI, isolat Xoo dari Kabupaten Karawang dan Bekasi dikelompokkan menjadi 12 patotipe (Tabel 1). Patotipe Xoo yang sudah diidentifikasi umumnya mempunyai lebih dari satu gen virulen (Tabel 1, Gambar 1). Patotipe I terdiri atas isolat Xoo yang mempunyai gen virulen untuk mengatasi tiga gen ketahanan, yaitu Xa-1, Xa-11, dan Xa-14. Patotipe II mempunyai gen virulen untuk mengatasi gen ketahanan Xa-2, Xa-4, Xa-10, Xa-11, dan Xa-14. Patotipe III mempunyai gen virulen untuk mengatasi Xa-1, Xa-2, Xa-4, Xa-10, Xa-11, dan Xa-14. Patotipe yang paling dominan (46.23%),

yaitu patotipe V mempunyai gen virulen untuk mengatasi Xa-1, Xa-2, Xa-3, Xa-4, Xa-10, Xa-11, dan Xa-14. Patotipe IV juga mampu mengatasi tujuh gen ketahanan, tetapi gen ketahanan yang diatasinya berbeda dari patotipe V. Patotipe IV mempunyai gen virulen yang mampu mengatasi Xa-7, tetapi tidak mempunyai gen virulen untuk mengatasi Xa-3. Populasi patotipe I dan II termasuk kecil (0.94%) dibandingkan dengan patotipe lainnya.

Patotipe VI, VII, dan VIII mirip dengan patotipe V, tetapi mempunyai tambahan satu gen virulen masing-masing untuk mengatasi Xa-21, xa-5, dan Xa-7. Patotipe IX, X, dan XI juga mirip dengan patotipe V, tetapi mempunyai tambahan dua gen virulen masing-masing untuk mengatasi kombinasi gen ketahanan Xa-7 dan Xa-21, xa-5 dan Xa-21, serta xa-5 dan Xa-7. Patotipe XII merupakan patotipe yang paling virulen karena mempunyai semua gen virulen yang diperlukan untuk mengatasi semua gen ketahanan (10 gen) yang dipunyai oleh semua padi galur isogenik yang digunakan sebagai kultivar diferensial.

Pola Penyebaran Patotipe *X. oryzae* pv. *oryzae*. Dengan menelusuri data asal usul isolat, baik dari segi lokasi, golongan air maupun kultivar inangnya, pola penyebaran masing-masing patotipe dapat dianalisis dengan lebih terperinci. Secara umum pola penyebaran patotipe Xoo tidak dipengaruhi oleh lokasi, golongan air maupun kultivar padi. Dengan beberapa kekecualian, semua patotipe menyebar pada semua golongan air di Kabupaten Karawang dan Bekasi (Gambar 2), dan menginfeksi semua kultivar padi (Gambar 3) yang ditemukan di daerah itu.

Patotipe V merupakan patotipe yang paling dominan pada semua golongan air di Kabupaten Karawang dan Bekasi. Patotipe I dan II hanya ditemukan menginfeksi padi kultivar IR 64 (Gambar 3) pada golongan air IV (Gambar 2). Hal ini agak unik karena patotipe I dan II ini tidak ditemukan pada golongan air I, II, dan III, padahal jumlah isolat yang diperoleh dari ke tiga golongan air tersebut jauh lebih banyak sehingga peluang untuk menemukan isolat yang termasuk patotipe IV seharusnya lebih besar. Patotipe yang lain lebih merata penyebarannya. Dari delapan kultivar padi yang ditemukan di lapangan, kultivar Sidomuncul, Taiwan, dan IR 64 merupakan kultivar yang paling dominan. Kultivar Taiwan hanya ditemukan di golongan air I, sedangkan Sidomuncul dan IR 64 terdapat di semua golongan air. Kultivar lainnya mempunyai penyebaran di dua atau tiga golongan air, tetapi lokasinya tidak sama.

Patotipe Xoo yang paling beragam terdapat pada kultivar Sidomuncul, Taiwan, dan IR 64 (Gambar 3). Pada kultivar lainnya hanya ditemukan 1-3 patotipe Xoo. Patotipe V paling dominan pada kultivar Sidomuncul, Taiwan, IR 64, Delis, dan kultivar lokal yang tidak diketahui identitasnya. Patotipe I dan II hanya ditemukan pada padi kultivar IR 64, walaupun jumlah contoh tanaman sakit IR 64 lebih kecil dibandingkan dengan contoh tanaman sakit dari Sidomuncul dan Taiwan.

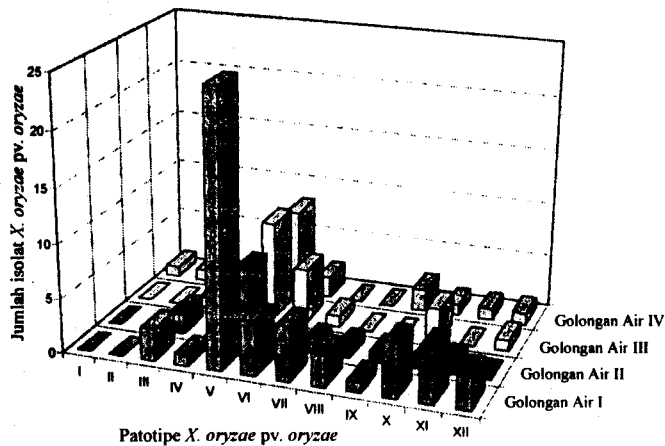
PEMBAHASAN

Pengelompokan dan Penyebaran Patotipe *X. oryzae* pv. *oryzae*. Walaupun menggunakan simbol yang sama

Tabel 1. Jumlah dan persentase patotipe *X. oryzae* pv. *oryzae* serta virulensinya pada galur isogenik IRRI.

Patotipe	Reaksi pada padi galur isogenik IRRI										Jumlah isolat	Persentase isolat
	IR-BB1	IR-BB2	IR-BB3	IR-BB4	IR-BB5	IR-BB7	IR-BB10	IR-BB11	IR-BB14	IR-BB21		
I	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	1	0.94
II	R	S	R	S	R	R	S	S	S	R	1	0.94
III	S	S	R	S	R	R	S	S	S	R	6	5.66
IV	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	1	0.94
V	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	49	46.23
VI	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	12	11.32
VII	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	7	6.60
VIII	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	4	3.77
IX	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	4	3.77
X	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	9	8.49
XI	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	7	6.60
XII	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	5	4.72

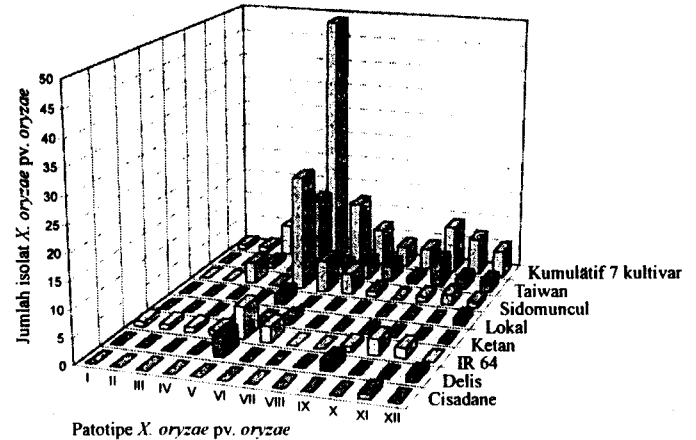
S = rentan (nilai 5-9), R = tahan (nilai 1-3).



Gambar 1. Pola penyebaran patotipe *X. oryzae* pv. *oryzae* pada empat golongan air di Kabupaten Karawang dan Bekasi, MK 1994.

(angka romawi), patotipe Xoo yang dikelompokkan berdasarkan metode modifikasi Kozaka tidak identik dengan patotipe yang dikelompokkan dengan menggunakan galur isogenik. Simbol yang digunakan dalam mengelompokkan patotipe bakteri berdasarkan galur isogenik masih bersifat sementara karena belum semua patotipe dapat teridentifikasi, khususnya patotipe Xoo yang sederhana dan kandungan gen virulennya sedikit. Selain itu galur isogenik padi yang digunakan baru 10. Galur isogenik padi lainnya masih diperbanyak benihnya. Untuk melengkapi informasi mengenai patotipe Xoo ini sebaiknya koleksi Xoo yang sudah dikumpulkan dari mulai tahun 1970-an diuji lagi virulensinya dengan menggunakan galur isogenik.

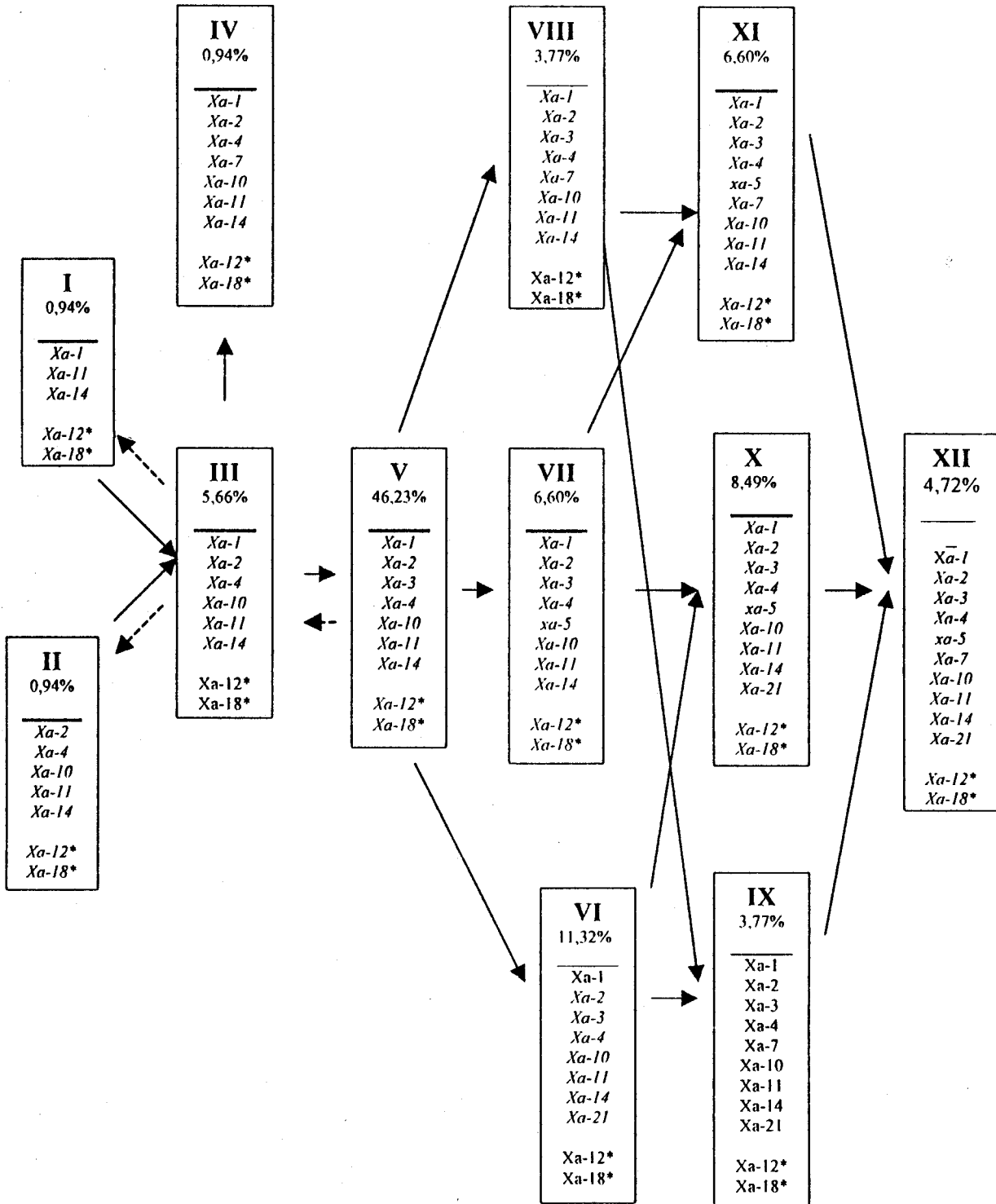
Patotipe Xoo dibedakan berdasarkan adanya perbedaan satu gen virulen dan hubungan kultivar padi dengan patotipe Xoo diasumsikan mengikuti hubungan gen ke gen (Hopkins *et al.* 1992) sehingga bila ada 10 gen ketahanan pada galur isogenik yang digunakan sebagai kultivar diferensial, secara teori diharapkan dapat ditemukan 2^{10} patotipe. Tujuh gen



Gambar 2. Perbandingan pola penyebaran patotipe *X. oryzae* pv. *oryzae* pada masing-masing kultivar dengan jumlah kumulatif pada tujuh kultivar di Kabupaten Karawang dan Bekasi, MK 1994.

ketahanan pada galur isogenik padi hampir tidak berfungsi sebagai pembeda patotipe karena gen tersebut sudah tidak efektif lagi sehingga jumlah patotipe Xoo yang dapat dibedakan dengan menggunakan galur isogenik tersebut diperkirakan sekurang-kurangnya ada delapan patotipe ($2^3 = 8$). Gen ketahanan yang terutama berperan sebagai pembeda patotipe dalam hal ini ialah gen *xa-5*, *Xa-7*, dan *Xa-21*.

Koevolusi patogen dengan tumbuhan turut berperan dalam menentukan keragaman genetika patogen dan dominansi suatu patotipe pada suatu periode di lokasi tertentu. Dalam konteks ini, keberadaan gen virulen pada populasi Xoo akan terseleksi oleh keberadaan gen ketahanan yang menjadi pasangannya yang terdapat pada kultivar padi. Gen ketahanan terhadap Xoo pada kultivar padi di Indonesia sebagian berasal dari kultivar lokal atau unggul nasional, dan sebagian lagi berasal dari kultivar introduksi. Kultivar introduksi ada yang ditanam secara luas seperti IR 5, IR 8, IR



Gambar 3. Hubungan peningkatan (—>) dan segregasi (--->) virulensi dengan kekerabatan serta arah dan tahap perubahan patotipe *X. oryzae* pv. *oryzae* (I - XII). *Xa*: gen ketahanan yang sudah dipatahkan oleh masing-masing patotipe, baik yang dimasukkan ke padi kultivar IR 24 maupun gen ketahanan yang sudah dipunyai oleh padi kultivar IR 24 (*).

26, IR 36, dan IR 64, tetapi ada pula yang penanamannya terbatas di kebun percobaan. Dengan merujuk kepada risalah yang ditulis oleh Ogawa *et al.* (1978), Sidhu *et al.* (1986), dan Ogawa (1993) gen ketahanan terhadap Xoo

yang terdapat pada kultivar padi yang ditanam di Indonesia sekurang-kurangnya ada sepuluh, yaitu: *Xa-1* (Tetep, Jawa-14, IR 28, IR 29, IR 30), *Xa-2* (Tetep, Rantai Mas), *Xa-3* (Jawa-14, Kuntulan, Zenith), *Xa-4* (Sigadis, Bajong, IR 20,

TKM 6), *Xa-10* (Cas 209), *Xa-11* (IR 8), *Xa-12* (Jawa-14, IR 28, IR 29, IR 30), *Xa-14* (TN1), *Xa-16* (Tetep), dan *Xa-18* (IR 24).

Baru-baru ini diketahui bahwa padi kultivar Aceh-Aceh, Baso, dan Sipulut bersifat tahan terhadap patotipe IV dalam sistem Kozaka. Dalam pengujian dengan menggunakan padi galur isogenik yang sifatnya masih terbatas diketahui bahwa hanya gen ketahanan *xa-5*, *Xa-7*, dan *Xa-21* yang masih efektif terhadap patotipe ini (data tidak dipublikasi) sehingga padi kultivar Aceh-Aceh, Baso, dan Sipulut sekurang-kurangnya mempunyai salah satu dari tiga gen ketahanan tersebut. Hal ini masih perlu dikonfirmasi dengan analisis genetika yang lebih saksama. Dengan mengacu kepada semua informasi tersebut di atas, maka wajar bila patotipe Xoo di Indonesia mempunyai banyak gen virulen, dan banyak gen ketahanan terhadap Xoo yang sudah tidak efektif lagi.

Seperti telah dikemukakan sebelumnya, gen ketahanan yang relatif masih efektif terhadap Xoo ialah *xa-5*, *Xa-7*, dan *Xa-21*, tetapi di alam terdapat patotipe Xoo yang dapat mengatasi kombinasi dari ke tiga gen ketahanan tersebut. Berdasarkan data tersebut, gagasan untuk mengendalikan Xoo dengan menggabungkan semua gen ketahanan dalam satu kultivar (*pyramiding gene*) tidak dapat dianjurkan. Penggabungan semua gen ketahanan dalam suatu kultivar hanya akan menyeleksi patotipe XII yang mampu untuk mengatasi semua gen ketahanan untuk mendominasi populasi Xoo sehingga keefektifan *xa-5*, *Xa-7*, dan *Xa-21* tidak akan bertahan lama. Pemanfaatan konsep galur majemuk (*multi-lines*) (van der Plank 1968, Browning & Frey 1969, Nelson 1977) dan pergiliran gen (*gene deployment*) (van der Plank 1968, Nelson 1977) mungkin akan lebih baik untuk menghambat terjadinya pergeseran populasi Xoo, khususnya dalam mencegah terjadinya dominansi patotipe XII. Sebelum menerapkan konsep galur majemuk dan pergiliran gen perlu dipastikan bahwa konsep seleksi untuk stabilisasi berperan dalam mengatur interaksi inang-patogen pada patosistem padi-Xoo. Menurut konsep seleksi untuk stabilisasi yang dikemukakan oleh van der Plank (1968), penambahan gen virulen akan mengurangi *fitness* suatu patogen sehingga patotipe yang mempunyai banyak gen virulen (patotipe yang kompleks) akan kalah oleh patotipe yang hanya mempunyai sedikit gen virulen (patotipe sederhana) bila kedua patotipe tersebut harus berkompetisi pada padi kultivar sederhana, yaitu kultivar yang tidak mempunyai atau hanya mempunyai sedikit gen tahan. Hal ini perlu dipelajari mengingat isolat Xoo yang diisolasi dari Karawang dan Bekasi mempunyai banyak gen virulen (patotipe yang kompleks), walaupun gen virulen tersebut tidak diperlukan.

Patotipe IV, V, VI, VII, dan VIII dapat digunakan dalam menyeleksi galur-galur hasil persilangan yang mempunyai gen ketahanan *xa-5*, *Xa-7*, dan *Xa-21*. Patotipe XII merupakan patotipe yang paling virulen. Patotipe ini sebaiknya digunakan untuk menguji koleksi plasma nutfah padi untuk mendapatkan sumber ketahanan yang baru terhadap Xoo. Untuk lebih memahami hubungan kultivar padi dan patotipe Xoo, maka gen ketahanan yang ada pada padi kultivar Sidomuncul, Taiwan, dan Delis perlu dipelajari dengan menggunakan isolat yang mewakili masing-masing patotipe Xoo.

Teknik biologi molekuler banyak dimanfaatkan oleh para peneliti untuk mempelajari keragaman genetika dan filogeni suatu patogen. Dengan menggunakan teknik *restriction fragment length polymorphism* Yashitola *et al.* (1997) berhasil mengelompokkan 67 isolat Xoo yang dikumpulkan dari berbagai lokasi di India menjadi sembilan haplotipe. Haplotipe BXO1 dan haplotipe lain yang erat hubungan kekerabatannya dengan BXO1 merupakan haplotipe yang paling dominan (60 dari 67 isolat) dan ditemukan pada berbagai lokasi dengan kondisi ekologi yang beragam. Haplotipe BXO5, BXO6, BXO8, dan BXO17 masih sedikit dan terbatas penyebarannya. Kelompok haplotipe BXO1 tidak virulen terhadap padi kultivar BJI yang mengandung gen *xa-5* dan *xa-13*, serta padi kultivar DV 85 yang mengandung gen *xa-5* dan *Xa-7*, sedangkan BXO5, BXO6, BXO8, dan BXO17 bersifat virulen pada kedua kultivar tersebut. Oleh karena itu mereka menyimpulkan bahwa analisis haplotipe bermanfaat untuk menduga pola virulensi Xoo, walaupun mereka tidak dapat mengidentifikasi gen virulen yang dikandung oleh kelompok haplotipe Xoo secara terperinci. Bila informasi yang diperoleh Yashitola *et al.* (1997) dibandingkan dengan informasi hasil penelitian ini, maka analisis keragaman genetika dengan teknik konvensional yang menggunakan galur isogenik padi relatif lebih baik dalam mengarahkan program pemuliaan padi untuk mengatasi Xoo. Dengan menggunakan galur isogenik padi gen ketahanan yang masih efektif dapat diketahui dan cara penggunaan gen ketahanan tersebut dapat disarankan untuk menghambat perubahan atau pergeseran patotipe Xoo di alam agar gen ketahanan tetap efektif untuk jangka waktu yang lama. Patotipe yang diidentifikasi dengan menggunakan galur isogenik padi juga dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan suatu gen ketahanan yang sifatnya dominan yang berada pada galur yang masih heterozigot untuk sifat ketahanan tersebut. Dengan demikian penggunaan penanda molekuler yang sekarang ini banyak diminati para peneliti walaupun biayanya relatif mahal tidak perlu dilakukan.

Berdasarkan data pola penyebaran patotipe Xoo yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa dominansi patotipe V tidak dipengaruhi atau berkelompok pada kultivar padi atau pada golongan air tertentu, sedangkan patotipe I dan II penyebarannya masih terbatas pada padi kultivar IR 64 dan golongan air IV. Beberapa patotipe yang tidak atau belum ditemukan pada golongan air II, III, dan IV mungkin disebabkan karena jumlah isolat Xoo yang diperoleh dari golongan air tersebut relatif terbatas dan lebih kecil dibandingkan dengan jumlah isolat Xoo yang diisolasi dari contoh tanaman sakit yang berasal dari golongan air I sehingga peluang ditemukannya isolat-isolat tersebut jelas lebih kecil.

Hubungan Kekerabatan, Arah serta Tahap Perubahan Patotipe *X. oryzae* pv. *oryzae*. Informasi mengenai keragaman genetika, hubungan kekerabatan, serta arah perubahan dan dominansi patotipe suatu patogen sangat penting dalam mempelajari epidemiologi penyakit tanaman, khususnya dalam menyusun kebijakan pengendalian penyakit dengan menggunakan kultivar yang tahan. Dengan menggunakan galur isogenik sebagai kultivar diferensial kita dapat mempelajari jumlah dan komposisi gen virulen dari suatu patotipe. Hubungan kekerabatan serta arah dan tahap

perubahan patotipe suatu patogen dapat ditelusuri antara lain dengan membandingkan jumlah dan komposisi gen virulen yang dimiliki oleh masing-masing patotipe.

Dalam konteks ini, untuk menganalisis hubungan kekerabatan serta arah dan tahap perubahan patotipe Xoo diajukan dua hipotesis (Gambar 1). Pada hipotesis I diasumsikan bahwa perkembangan patotipe dimulai dari patotipe yang paling sederhana (patotipe yang mempunyai gen-gen virulen yang paling sedikit), yaitu patotipe I yang mempunyai tiga gen virulen untuk mengatasi gen ketahanan *Xa-1*, *Xa-11*, dan *Xa-14*, dan patotipe II yang mempunyai lima gen virulen untuk mengatasi gen ketahanan *Xa-2*, *Xa-4*, *Xa-10*, *Xa-11*, dan *Xa-14*. Hibridisasi antara patotipe I dengan patotipe II akan menghasilkan patotipe III yang mempunyai enam gen virulen, karena patotipe I dan II sudah mempunyai dua gen virulen yang sama, yaitu gen virulen untuk mengatasi gen ketahanan *Xa-11* dan *Xa-14*.

Patotipe III mengalami mutasi atau hibridisasi sehingga mendapat tambahan gen virulen untuk mengatasi gen ketahanan *Xa-3* (patotipe V) atau gen virulen untuk mengatasi gen ketahanan *Xa-7* (patotipe IV). Patotipe V merupakan cikal bakal untuk patotipe VI, VII, dan VIII, yang masing-masing mendapat tambahan satu gen virulen untuk mengatasi gen ketahanan *Xa-21* (patotipe VI), gen ketahanan *xa-5* (patotipe VII), dan gen ketahanan *Xa-7* (patotipe VIII). Diduga di alam terjadi hibridisasi antara ke tiga patotipe tersebut, sehingga rekombinasi yang dihasilkan menjadi patotipe IX, X, XI, dan XII.

Pada hipotesis II, keragaman virulensi patotipe Xoo tidak hanya semata-mata disebabkan oleh hibridisasi yang menyebabkan penambahan gen virulen, tetapi oleh kombinasi antara segregasi patotipe V menjadi patotipe III, I, dan II, dan mutasi atau hibridisasi yang menyebabkan terjadinya penambahan satu, dua, atau tiga gen virulen pada patotipe V untuk mengatasi *xa-5*, *Xa-7*, dan *Xa-21*. Alasan yang mendukung hipotesis terjadinya segregasi gen ketahanan pada Xoo, yaitu rendahnya populasi patotipe III (5.66%), patotipe I (0.94%), dan patotipe II (0.94%) dibandingkan dengan patotipe V (46.23%). Bila patotipe I, II, dan III merupakan induk dari patotipe V, maka populasi ke tiga patotipe tersebut seharusnya lebih tinggi atau sekurang-kurangnya sama dengan patotipe V. Selain itu patotipe I dan II hanya ditemukan di golongan air IV yang waktu tanamnya paling akhir dan bedanya sekitar satu bulan lebih lambat dari waktu tanam di golongan air I. Bila patotipe I dan II merupakan cikal bakal patotipe V, maka kedua patotipe tersebut seharusnya banyak ditemukan di golongan air I, II, dan III.

Faktor yang menyebabkan terjadinya segregasi gen virulen pada populasi Xoo tidak diketahui dengan pasti. Ada kemungkinan infeksi bakteri Xoo oleh bakteriofag yang lisogenik menjadi salah satu penyebab terjadinya segregasi gen virulen tersebut. Pada waktu pembentukan partikel transduksi, sebagian genom bakteri yang letaknya berdekatan dengan kedua ujung genom bakteriofag yang melekat pada genom bakteri dapat ikut terbawa dan ditularkan ke bakteri lain. Gen *gal* (diperlukan untuk pemanfaatan galaktosa sebagai sumber energi) dan gen *bio* (diperlukan untuk sintesis biotin) yang merupakan penanda pada bakteri *E.*

coli diketahui dapat terambil dari genom *E. coli* pada waktu fag *lambda* membentuk partikel transduksi. Fag $\Phi 80$ juga diketahui mampu mengambil dan memindahkan gen *trp* (dibutuhkan untuk sintesis triptofan) dari bakteri *E. coli* (Gardner & Snustad 1981). Dengan berasumsi bahwa sebagian genom bakteri Xoo yang berperan sebagai gen virulen untuk mengatasi gen ketahanan tertentu hilang atau terbawa pada waktu pembentukan partikel transduksi, maka wajar bila isolat Xoo yang sebagian genomnya telah terambil akan berkurang virulensinya. Bila sel bakteri ini masih mengalami pembelahan sel sebelum terjadi lisis, maka akan terbentuk patotipe baru yang virulensinya lebih rendah daripada patotipe asalnya. Penularan dan keberadaan gen ketahanan yang terbawa pada waktu pembentukan partikel transduksi tidak dapat terdeteksi karena latar belakang genetika dari populasi Xoo di lokasi tersebut termasuk patotipe kompleks yang sudah banyak mengandung gen virulen. Fenomena ini baru dapat diketahui bila bakteriofag yang berasal dari partikel transduksi tersebut diinokulasikan ke isolat Xoo yang tidak mempunyai gen virulen, misalnya ke patotipe I pada pengelompokan Xoo dengan menggunakan metode Kozaka.

Semua patotipe yang mempunyai gen virulen untuk mengatasi gen ketahanan *Xa-7* populasinya relatif rendah (patotipe IV = 0.94%, patotipe VIII = 3.77%, patotipe IX = 3.77%, patotipe XI = 6.60%, patotipe XII = 4.72%). Diduga penambahan gen virulen untuk mengatasi gen ketahanan *Xa-7* terjadi lebih akhir setelah penambahan gen virulen untuk mengatasi gen ketahanan *xa-5* dan *Xa-21* pada patotipe V.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih dan penghargaan kami sampaikan kepada Darman Maudar, pemulia di Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan dan Darmono Taniwiryo, peneliti Patologi Tumbuhan dan Biologi Molekuler di Balai Penelitian Bioteknologi Pertanian atas kritikan dan saran dalam penulisan makalah ini, serta kepada Yusida, Eddy Sutarwo almarhum, dan Soma Mihardja yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian baik di lapangan maupun di laboratorium. Ucapan terima kasih kami sampaikan juga ke Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor yang telah mengalokasikan dana APBN 1994/1995 untuk membiayai kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Browning, J.A. & K.J. Frey. 1969. Multiline cultivars as a means of disease control. *Ann. Rev. Phytopathol.* 7:335-382.
- Gardner, E.J. & D.P. Snustad. 1981. *Principles of Genetics*. Ed. ke-6 New York: John Wiley & Sons.
- Hifni, H.R. 1986. Kelompok baru bakteri *X. campestris* pv. *oryzae* berdasarkan patogenisitasnya pada varietas padi. *Penelitian Pertanian* 6:74-76.
- Hopkins, C.M., F.F. White, S.H. Choi, A.Guo & J.E. Leach. 1992. Identification of a family of avirulence genes from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol. Plant-Microb. Interact.* 5:451-459.

- Horino, O. & H.R. Hifni.** 1978. Resistance of some rice varieties to bacterial leaf blight and a new pathogenic group of the causal bacterium, *Xanthomonas oryzae*. *Contr. Centr. Res. Inst. Agric.* 44:1-17.
- IRRI.** 1993. *The Thirteenth International Rice Bacterial Blight Nursery*. International network for genetic evaluation of rice (INGER). Manila: International Rice Research Institute.
- Kardin, M.K. & H.R. Hifni.** 1993. Penyakit hawar daun bakteri padi di Indonesia, hlm. 85-99. *Di dalam* M. Syam, H. Kasim & A. Musaddad (ed.), *Risalah Seminar Puslitbang Tanaman Pangan*. April 1992 - Maret 1993. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan.
- Nelson, R.R.** 1977. The use of resistance genes to curb population shifts in plant pathogens, hlm. 49-66. *Di dalam* R.R. Nelson (ed.), *Breeding Plants for Disease Resistance. Concept and Applications*. London: The Pennsylvania State University Press.
- Noda, T., T. Yamamoto, H. Kaku & O. Horino.** 1996. Geographical distribution of pathogenic races of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Japan in 1991 and 1993. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 62:549-553.
- Ogawa, T.** 1993. Methods and strategy for monitoring race distribution and identification of resistance genes to bacterial leaf blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) in rice. *JARQ* 27:71-80.
- Ogawa, T., T. Morinaka, K. Fujii & T. Kumura.** 1978. Inheritance of resistance varieties Kogyoku and Java 14 to bacterial group V of *Xanthomonas oryzae*. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 44:137-141.
- Ogawa, T., T. Yamamoto, G. S. Khush & T.W. Mew.** 1991. Breeding of near isogenic lines of rice with single genes for resistance to bacterial blight pathogen (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*). *Jpn. J. Breed.* 41:523-529.
- Ou, S.H.** 1985. *Rice Diseases*. Ed. ke-2. Kew: Commonwealth Mycol. Inst.
- Sidhu, G.S., M.R. Gagneja, G.L. Raina, R.K. Sami & K.S. Gill.** 1986. Genetics of bacterial blight resistance in rice, hlm. 481-489. *Di dalam Rice Genetics*. Proceed. Rice Genetic Symp. 27-31 May 1985. Manila: International Rice Research Institute.
- Suryadi, Y. & M. Machmud.** 1987. Patotipe bakteri *X. campestris* pv. *oryzae* di Jawa-Barat pada musim tanam 1985/1986 dan pengujian ketahanan varietas padi terhadap patotipe III, IV, VI dan VIII, hlm. 265-269. *Di dalam* I.R. Sastrahidayat, M.C. Macfud & S. Djauhari (ed.), *Prosiding Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia 24-26 Nopember 1987*. Surabaya: Perhimpunan Fitopatologi Indonesia.
- Yamamoto, T., H.R. Hifni, M. Machmud & D.M. Tantera.** 1977. Variation in pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dowson and resistance of rice varieties to the pathogen. *Contr. Centr. Res. Inst. Bogor* 28:1-22.
- Yashitola, J., D. Krishnaveni, A.P.K. Reddy & R.V. Sonti** 1997. Genetic diversity within population of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in India. *Phytopathology* 87:760-765.
- van der Plank, J.E.** 1968. *Disease Resistance in Plants*, New York: Academic Press.

