

Analisis Segregasi Populasi Galur Inbrida Rekombinan dari Persilangan Danau Tempe x Kencana Bali terhadap Ras Blas Tertentu di Rumah Kaca

Reflinur, Masdiar Bustamam, dan Dita Agisimanto

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Menanam varietas tahan merupakan strategi yang paling ekonomis, efisien, dan ramah lingkungan dalam mengurangi kehilangan hasil akibat serangan blas yang disebabkan oleh cendawan *Pyricularia grisea*. Percobaan ini, dirancang untuk mengetahui reaksi ketahanan galur inbrida rekombinan terhadap ras ID-14 dan 041. Percobaan dilakukan dalam acak lengkap dan 3 ulangan. Hasil percobaan menunjukkan bahwa reaksi ketahanan galur RI terhadap ras ID-14 adalah 67% (134 galur) bereaksi tahan (T), 32% (64 galur) bereaksi agak tahan (AT), dan 1% (2 galur) peka (P). Sedangkan reaksi ketahanan galur RI terhadap ras 041 adalah sebagai berikut 14% (28 galur) bereaksi tahan (T) terhadap ras 041, 69,5% (139 galur) bereaksi agak tahan (AT), dan 16,5% (33 galur) peka (P).

Kata kunci: Penyakit blas, galur inbrida rekombinan, Danau Tempe x Kencana Bali, rumah kaca

ABSTRACT

The use of resistant variety is considered as an inexpensive, efficient, and environmentally safe method to control the rice blast disease caused by *Pyricularia grisea*. This study is designed to evaluate the resistance of 200 recombinant inbred lines of Danau Tempe and Kencana Bali to two strains of blast fungus, ID-14 and 041. The experiment was conducted in the greenhouse in complete randomized block design (CRBD) with three replications. Present assessment specifying that out of 200 lines tested, 67% (134 lines) were resistant, 34% (64 lines) moderately resistant, and 1% 2 lines) susceptible to strain ID-14. These lines react slightly different to strain 041; wherein 14% (28 lines) resistant, 69.5% (139 lines) moderately susceptible, and 16.5% (33 lines) susceptible.

Key words: Rice blast, recombinant inbredlines, Danau Tempe x Kencana Bali, green house

PENDAHULUAN

Dalam upaya peningkatan produksi beras di Indonesia, padi gogo merupakan alternatif kedua setelah padi sawah, sementara pengembangan padi gogo mengalami berbagai kendala yang disebabkan oleh faktor biotik dan non biotik.

Penyakit blas merupakan salah satu kendala biotik dalam pengembangan padi gogo. Penyakit ini disebabkan oleh cendawan *Pyricularia grisea* Sacc (sinonim dengan *P. oryzae* Cavara) yang dalam perkembangan

seluler dan morfo-loginya sangat adaptif pada tanaman yang diinfeksi. Namun akhir-akhir ini blas mulai banyak menyerang padi sawah. Hasil survei penyakit blas pada tanaman padi di Sumatera Utara dan Sumatera Barat periode Juni-Juli 1998 (Zoelheri Noor, komunikasi langsung) menunjukkan bahwa intensitas serangan blas mencapai 35-72% dari total area padi sawah. Di samping itu, pada waktu yang bersamaan di Jawa Barat terutama di daerah Sukabumi dan sepanjang pantai utara, ternyata blas sudah merupakan hal yang cukup memprihatinkan terutama pada IR64. Hal ini diperkirakan sebagai akibat tingkat adaptabilitas *P. grisea* yang sangat tinggi.

Penanggulangan penyakit blas yang efisien dan ekonomis tergantung dari penggunaan varietas. Sementara ketahanan suatu varietas terhadap penyakit blas tidak dapat bertahan lama karena jamur *P. grisea* mempunyai banyak ras dan ras tersebut dapat berubah dengan cepat (Ou, 1985). Oleh sebab itu, perlu dilakukan perakitan varietas tahan dengan mencari sumber gen yang membawa sifat ketahanan terhadap blas. Beberapa tahun yang lalu Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan telah melepas varietas padi unggul (Danau Tempe) yang tahan blas. Namun gen pengatur ketahanan varietas ini belum diketahui dengan rinci, baik lokasi kromosomnya maupun markah molekuler yang terpaut dengan sifat ketahanannya.

Dengan kemajuan bioteknologi, memungkinkan untuk menentukan peta genetik pengatur gen ketahanan dan pencarian markah DNA yang terdekat dengan sifat tahan. Markah DNA yang terpaut erat dengan gen ketahanan kemudian dapat digunakan sebagai alat penyeleksi material pemuliaan tanpa mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Diketahui bahwa seleksi dengan markah DNA mempunyai banyak kelebihan dibandingkan dengan cara pengujian yang biasa dilakukan melalui uji fenotipe.

Sebagai salah satu bagian dari program pemetaan gen tahan blas pada varietas padi Indonesia, dibuat persilangan antara Danau Tempe (tahan blas) dengan Kencana Bali (rentan blas), dan keturunannya dikembangkan secara *single seed descent* dari F1. Untuk menunjang program pemetaan gen tahan blas pada varietas Danau Tempe dan pencarian markah RFLP yang terpaut dengan gen tahan blas, maka pada penelitian ini dilakukan uji ketahanan galur inbrida rekombinan terhadap serangan blas di rumah kaca.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilakukan di rumah kaca dan Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, dari Mei-Juni 2001. Dua ratus galur populasi inbrida rekombinan turunan F8 hasil persilangan antara varietas Danau Tempe sebagai tetua tahan dan Kencana Bali sebagai tetua peka.

Dua ras blas yang digunakan dalam percobaan ini diperoleh dari koleksi Kelti Penyakit Balai Penelitian Tanaman Padi Sukamandi. Kedua isolat

tersebut adalah ras ID-14 dan 041, selanjutnya isolat tersebut ditingkatkan virulensinya dengan menginokulasikannya pada tanaman peka blas (Kencana Bali) dan diisolasi kembali untuk dimurnikan pada medium PDA selama 7 hari. Pada tahap berikutnya, isolat murni dipindahkan pada medium sporulasi agar *oat meal* (OMA) selama 12 hari. Pada hari kesepuluh dilakukan penggosokan koloni jamur dengan menggunakan air steril (10-20 ml) + streptomycin 0,02 g/l air steril dan disimpan dalam inkubator bercahaya dengan lampu neon 20 watt selama 48 jam. Dua hari kemudian dilakukan penggosokan ulang dan hasil pencucian kedua ini disaring dan suspensinya digunakan sebagai inokulum. Kerapatan konidia dihitung dengan hemasitometer sehingga diperoleh konsentrasi sebanyak 3×10^5 konidia/ml. Untuk membantu penempelan inokulum pada daun tanaman suspensi tersebut ditambah beberapa tetes Tween 20. Suspensi inokulum disemprotkan pada tanaman yang berumur 15 hari setelah tanam. Tanaman uji disimpan selama 48 jam di ruang lembab yang dan kelembabannya dipertahankan di atas 90% dengan mengalirkan air yang dipompakan pada dinding ruang lembab. Setelah itu, selama 2 hari dilakukan pengairan dengan menggunakan *sprinkle* embun.

Percobaan dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap. Tanaman uji ditanam dalam pot percobaan, masing-masing galur diulang 3 kali untuk setiap isolat dan setiap galur ditanam sebanyak 10 benih, sebagai unit pengamatan di-amati 5 tanaman. Media tanaman terdiri dari tanah dan pupuk kandang (sapi) dengan perbandingan 1 : 1. Media tanam disiapkan satu bulan sebelum penanaman.

Pengamatan dilakukan 1 minggu setelah inokulasi. Tingkat serangan blas di-nilai menggunakan skoring berdasarkan sistem standar evaluasi dari IRRI. Tingkat serangan didasarkan atas luas serangan pada daun dan dikelompokkan berdasarkan skala skoring 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 dengan batasan skor 5 bersifat tahan dan >5 bersifat rentan. Pengamatan dilakukan terhadap rata-rata luas bercak serangan pada daun yang paling tinggi untuk setiap nomor tanaman. Hasil skoring yang diperoleh diolah dengan sidik ragam menggunakan program SAS.

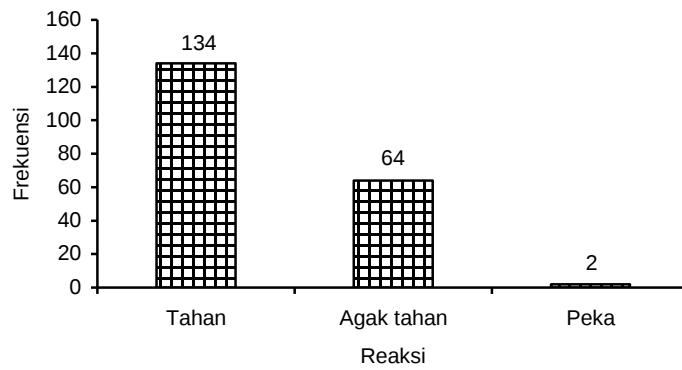
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis segregasi Galur RI terhadap Ras ID-14

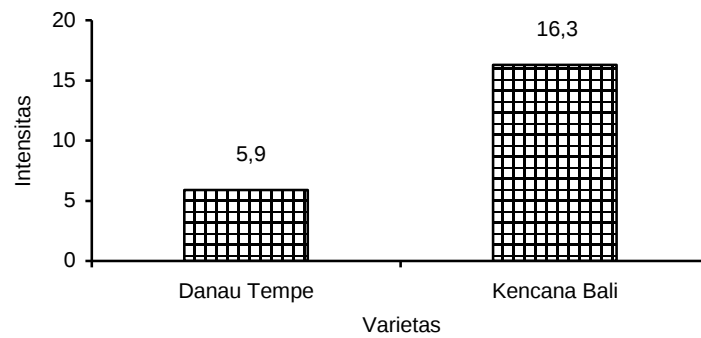
Reaksi ketahanan masing-masing galur inbrida rekombinan yang diuji terhadap ras ID-14 ditampilkan pada Gambar 1. Dari 200 galur RI yang diuji 67% (134 galur) bereaksi tahan (T), 32% (64 galur) bereaksi agak tahan (AT), dan 1% (2 galur) tidak tahan (P). Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar populasi galur RI mempunyai gen ketahanan terhadap ras blas ID-14. Demikian pula dengan kedua tetuanya, Danau Tempe (cek tahan) dan Kencana Bali (cek peka) bereaksi tahan terhadap ras tersebut (Gambar 2).

Dengan kata lain, Kencana Bali sebagai cek peka ternyata juga memiliki gen ketahanan terhadap ras ID-14. Reaksi masing-masing galur inbrida rekombinan terhadap ras ini disajikan pada Lampiran 1.

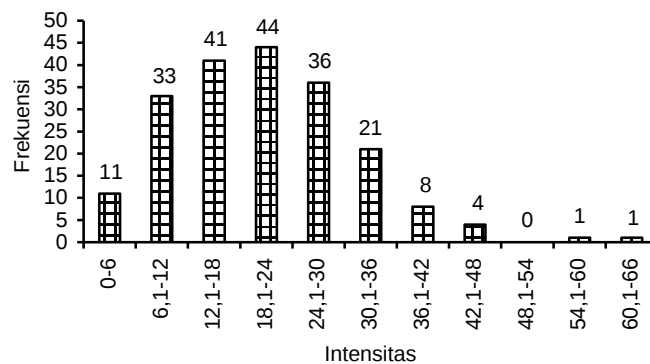
Sementara itu, untuk melihat frekuensi penyebaran tingkat skoring blas pada 200 galur RI terhadap ras ID-14 ditampilkan pada Gambar 3. Tingkat skoring (intensitas serangan) tersebar pada kelas tersendiri, ada kelompok galur yang mempunyai tingkat skoring yang satu kelas dengan Danau Tempe atau Kencana Bali. Galur yang berada di sebelah kanan Kencana Bali (cek peka) adalah galur yang lebih peka daripada tetua pekanya. Dilihat dari pola sebaran intensitas serangan, ternyata sebagian besar populasi galur yang diuji lebih banyak terkelompok pada kategori tahan (0-25%).



Gambar 1. Reaksi ketahanan 200 galur inbrida rekombinan terhadap ras ID-14



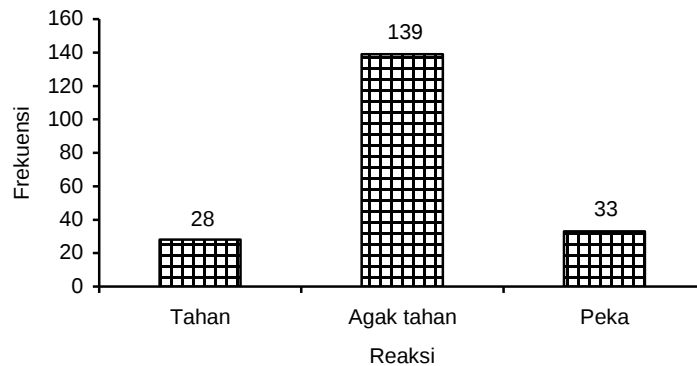
Gambar 2. Intensitas serangan ras ID-14 terhadap tetua persilangan



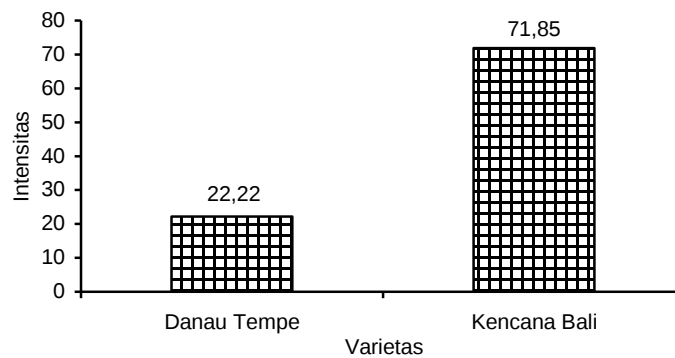
Gambar 3. Frekuensi penyebaran tingkat skoring blas 200 galur RI terhadap ras ID-14

Analisis Segregasi Galur RI terhadap Ras 041

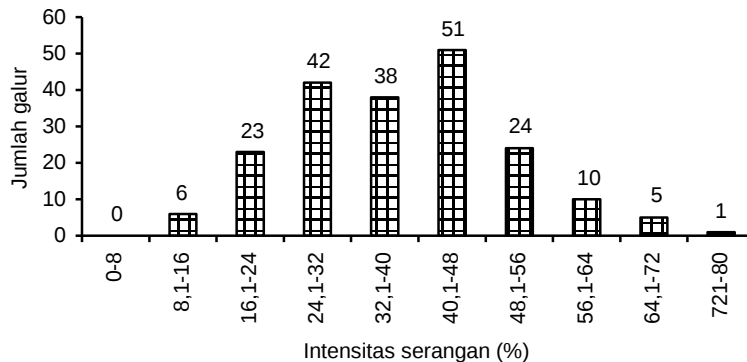
Reaksi ketahanan masing-masing galur inbrida rekombinan yang diuji terhadap ras 041 ditampilkan pada Lampiran 2. Dari 200 galur RI yang diuji 14% (28 galur) bereaksi tahan (T) terhadap ras 041, 69,5% (139 galur) bereaksi agak tahan (AT), dan 16,5% (33 galur) tidak tahan (P) (Gambar 4). Tingkat serangan ras tersebut terhadap kedua tetua persilangan ditampilkan pada



Gambar 4. Reaksi ketahanan 200 galur Inbrida rekombinan terhadap ras 041



Gambar 5. Intensitas serangan ras 041 terhadap tetua persilangan



Gambar 6. Frekuensi penyebaran tingkat scoring blas 200 galur RI terhadap ras 041

Gambar 5. Terlihat per-bedaan yang jelas pada tingkat serangan ras ini terhadap kedua tetuanya di mana intensitas serangan pada Danau Tempe 22,22% (kategori tahan) dan Kencana Bali 71,85% (peka).

Penyebaran tingkat skoring (intensitas serangan) ras ini pada progeninya ditampilkan pada Gambar 6. Terdapat beberapa galur yang lebih tahan dari Danau Tempe (tetua tahan) dan ada pula galur yang lebih peka dari Kencana Bali (tetua peka). Sementara itu, sebagian besar galur tersebut berada pada tingkat ketahanan antara kedua tetuanya.

KESIMPULAN

Dari hasil percobaan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Reaksi ketahanan galur RI terhadap ras ID-14 adalah 67% (134 galur) bereaksi tahan (T), 32% (64 galur) bereaksi agak tahan (AT), dan 1% (2 galur) peka (P).
2. Reaksi ketahanan galur RI terhadap ras 041 adalah 14% (28 galur) bereaksi tahan (T) terhadap ras 041, 69,5% (139 galur) bereaksi agak tahan (AT), dan 16,5% (33 galur) peka (P).
3. Dengan diperolehnya data ketahanan galur RI terhadap ras yang sudah diuji dengan metode monosiklik, maka perlu dilanjutkan pengujian ketahanan galur tersebut secara polisiklik.

DAFTAR BACAAN

- Amir, M. dan E. Lubis. 1987.** Uji ketahanan varietas/galur padi terhadap 8 ras dominan jamur *Pyricularia oryzae* cav. Prosiding Ilmu penyakit Tumbuhan dan Kongres Nasional PFI IX Surabaya. hlm. 182-183.
- Dellaporta, S.L., J. Wood, and J.B. Hicks. 1983.** A plant DNA minipreparation: Version II. Plant Mol. Biol. Rep. 1:19-21.
- Kristanti. 1996.** Asean rice biotechnology network (ARBN). Training Report. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
- Levy, M., Fernando, J. Correa-Victoria, Robert, S. Zeigler, S. Xu, and J.E. Hammer. 1993.** Genetic diversity of rice blast fungus in a disease nursery.
- McCouch, S.R. and S.D. Tanksley. 1991.** Development and use of restriction fragment length polymorphism in rice breeding and genetics. *In* Kush, G.V. and G.H. Toennissen (*Eds.*). Rice Biotechnology.
- Ou, S.H. 1985.** Rice disease 2nd Ed. Commonwealth Mycological Institute, C.A.B., Kew, Surrey, England. p. 109-201.
- Trainees Manual. 1994.** ARBN-1, Follow-up Training Course. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

- Traines Manual. 1994.** Asian Rice Biotechnology Network (ARBN) Phase I Training Course. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
- Utami, D.W. 2000.** Evaluasi sifat ketahanan terhadap tiga ras uji penyakit blas (*Pyricularia grisea*) pada spesies padi liar *Oryza rufifogon* dan populasi tanaman BC2F3 turunannya.
- Vanderplank, J.E. 1986.** Disease resistance in plants. Dept. Agric.Tech. Serv. Pectonia, Southern Africa. Academic Press, New York.

Lampiran 1. Reaksi 200 galur RI terhadap ras ID-14

Galur	Intensitas (%)	Reaksi ketahanan	Galur	Intensitas (%)	Reaksi ketahanan
1	17,04	T	55	22,96	T
2	10,37	T	56	11,48	T
3	11,11	T	57	15,56	T
4	11,85	T	58	28,89	AT
5	15,56	T	59	11,11	T
6	22,96	T	60	18,89	T
7	19,26	T	61	17,78	T
8	13,15	T	62	15,56	T
9	30,37	AT	63	22,22	T
10	18,52	T	64	5,19	T
11	31,11	AT	65	16,30	T
12	20,00	T	66	26,67	AT
13	21,48	T	67	26,67	AT
14	18,52	T	68	32,59	AT
15	5,93	T	69	33,33	AT
16	11,11	T	70	36,30	AT
17	25,93	AT	71	18,52	T
18	35,56	AT	72	13,33	T
19	18,52	T	73	30,37	AT
20	8,89	T	74	34,07	AT
21	5,19	T	75	32,59	AT
22	16,30	T	76	8,15	T
23	14,07	T	77	14,07	T
24	18,52	T	78	34,81	AT
25	21,48	T	79	14,07	T
26	9,63	T	80	3,70	T
27	20,74	T	81	28,15	T
28	14,07	T	82	12,59	T
29	20,00	T	83	14,81	T
30	2,22	T	84	12,59	T
31	18,52	T	85	15,56	T
32	2,22	T	86	37,78	AT
33	26,67	AT	87	10,37	T
34	18,52	T	88	21,48	T
35	18,52	T	89	28,89	AT
36	14,07	T	90	10,37	T
37	9,63	T	91	61,48	P
38	14,81	T	92	27,78	AT
39	8,89	T	93	10,37	T
40	11,85	T	94	25,93	AT
41	25,19	AT	95	28,15	AT
42	17,78	T	96	28,15	AT
43	11,11	T	97	45,19	AT
44	18,15	T	98	31,11	AT
45	11,11	T	99	11,11	T
46	25,93	AT	100	26,67	AT
47	20,00	T	101	23,70	T
48	17,78	T	102	11,85	T
49	31,85	AT	103	36,30	AT
50	11,11	T	104	14,07	T
51	19,26	T	105	13,33	T
52	3,70	T	106	25,19	AT
53	22,96	T	107	33,83	AT
54	17,78	T	108	5,74	T

Lampiran 1. Lanjutan

Galur	Intensitas (%)	Reaksi ketahanan	Galur	Intensitas (%)	Reaksi ketahanan
109	13,33	T	156	42,96	AT
110	16,30	T	157	5,93	T
111	31,85	AT	158	14,07	T
112	16,30	T	159	37,04	AT
113	13,33	T	160	27,41	AT
114	8,15	T	161	24,44	T
115	24,44	T	162	8,15	T
116	7,41	T	163	34,07	AT
117	8,15	T	164	17,78	T
118	6,67	T	165	32,59	AT
119	11,85	T	166	13,33	T
120	5,19	T	167	40,00	AT
121	11,85	T	168	25,19	AT
122	32,59	AT	169	23,70	T
123	20,74	T	170	12,22	T
124	23,70	T	171	16,30	T
125	25,93	AT	172	27,47	AT
126	22,22	T	173	10,00	T
127	34,07	AT	174	20,74	T
128	24,44	T	175	55,56	P
129	17,78	T	176	17,78	T
130	20,74	T	177	31,11	AT
131	25,19	AT	178	17,78	T
132	25,93	AT	179	31,11	AT
133	36,30	AT	180	22,22	T
134	25,19	AT	181	17,78	T
135	22,96	T	182	11,85	T
136	28,15	AT	183	11,11	T
137	34,07	AT	184	19,26	T
138	26,67	AT	185	22,96	T
139	42,96	AT	186	22,96	T
140	21,48	T	187	28,15	AT
141	26,67	AT	188	8,15	T
142	22,22	T	189	24,44	T
143	28,15	AT	190	11,11	T
144	25,19	AT	191	28,15	AT
145	13,33	T	192	43,70	AT
146	25,19	AT	193	16,30	T
147	30,37	AT	194	17,04	T
148	12,59	T	195	38,52	AT
149	22,22	T	196	28,64	AT
150	9,07	T	197	5,56	T
151	22,22	T	198	23,70	T
152	20,37	T	199	22,96	T
153	22,96	T	200	23,70	T
154	29,44	AT	DT	5,93	T
155	37,04	AT	KB	16,30	T

Lampiran 2. Reaksi 200 galur RI terhadap ras 041

Galur	Intensitas (%)	Reaksi ketahanan	Galur	Intensitas (%)	Reaksi ketahanan
1	46,67	AT	55	50,37	P
2	40,00	AT	56	28,15	AT
3	62,96	P	57	70,37	P
4	30,37	AT	58	27,41	AT
5	64,44	P	59	43,70	AT
6	37,78	AT	60	41,98	AT
7	25,19	AT	61	17,59	T
8	48,52	AT	62	18,52	T
9	37,04	AT	63	46,67	AT
10	36,30	AT	64	25,19	AT
11	45,19	AT	65	49,63	AT
12	54,26	P	66	48,15	AT
13	22,96	T	67	48,15	AT
14	45,19	AT	68	29,63	AT
15	42,22	AT	69	49,63	AT
16	33,70	AT	70	61,48	P
17	47,65	AT	71	33,33	AT
18	40,00	AT	72	20,74	T
19	29,63	AT	73	40,74	AT
20	37,41	AT	74	41,48	AT
21	45,93	AT	75	35,56	AT
22	51,11	P	76	37,04	AT
23	28,89	AT	77	68,89	P
24	31,11	AT	78	42,22	AT
25	25,93	AT	79	60,93	P
26	22,22	T	80	52,22	P
27	42,22	AT	81	44,44	AT
28	35,56	AT	82	54,07	P
29	29,63	AT	83	31,85	AT
30	25,19	AT	84	21,48	T
31	39,26	AT	85	30,37	AT
32	42,22	AT	86	42,96	AT
33	20,74	T	87	38,52	AT
34	40,74	AT	88	33,33	AT
35	41,48	AT	89	42,22	AT
36	45,93	AT	90	55,19	P
37	65,93	P	91	61,48	P
38	53,33	P	92	28,89	AT
39	21,48	T	93	14,81	T
40	39,26	AT	94	17,04	T
41	58,52	P	95	37,78	AT
42	31,11	AT	96	29,63	AT
43	29,63	AT	97	53,33	P
44	29,63	AT	98	39,26	AT
45	31,85	AT	99	42,22	AT
46	43,70	AT	100	34,07	AT
47	43,70	AT	101	28,89	AT
48	58,52	P	102	35,83	AT
49	46,42	AT	103	37,04	AT
50	45,93	AT	104	15,56	T
51	20,74	T	105	31,11	AT
52	42,22	AT	106	37,78	AT

53	36,30	AT	107	46,30	AT
54	28,15	AT	108	57,04	P

Lampiran 2. Lanjutan

Galur	Intensitas (%)	Reaksi ketahanan	Galur	Intensitas (%)	Reaksi ketahanan
109	54,07	P	156	35,56	AT
110	17,04	T	157	46,67	AT
111	40,74	AT	158	14,07	T
112	47,41	AT	159	57,16	P
113	27,41	AT	160	61,48	P
114	30,37	AT	161	35,56	AT
115	44,44	AT	162	25,74	AT
116	51,11	P	163	51,11	P
117	48,15	AT	164	45,19	AT
118	33,33	AT	165	45,56	AT
119	50,37	P	166	38,52	AT
120	22,96	T	167	79,26	P
121	35,56	AT	168	39,26	AT
122	14,81	T	169	42,96	AT
123	15,00	T	170	30,37	AT
124	28,89	AT	171	25,93	AT
125	47,41	AT	172	39,26	AT
126	32,59	AT	173	32,59	AT
127	17,04	T	174	47,41	AT
128	29,26	AT	175	48,89	AT
129	25,19	P	176	38,52	AT
130	43,70	AT	177	28,15	AT
131	40,00	AT	178	46,67	AT
132	17,04	T	179	42,96	AT
133	18,52	T	180	12,59	T
134	45,93	AT	181	40,74	AT
135	30,37	AT	182	33,33	AT
136	37,04	AT	183	27,41	AT
137	65,93	P	184	37,04	AT
138	28,15	AT	185	32,59	AT
139	43,33	AT	186	47,41	AT
140	31,11	AT	187	54,07	P
141	22,96	T	188	40,74	AT
142	28,15	AT	189	43,70	AT
143	35,56	AT	190	17,04	T
144	25,43	P	191	55,56	P
145	19,26	T	192	35,56	AT
146	30,37	AT	193	18,52	T
147	20,00	T	194	20,00	T
148	40,00	AT	195	45,19	AT
149	34,81	AT	196	57,04	P
150	54,07	P	197	51,11	P
151	47,04	AT	198	20,00	T
152	19,63	T	199	25,19	AT
153	27,22	AT	200	34,07	AT
154	27,41	AT	DT	22,22	T
155	49,63	AT	KB	71,85	P