ISBN 979-3919-02-7

Penyimpanan Cendawan Blas *Pyricularia grisea* untuk Jangka Panjang

r.Ind. 632.4
PUS
B

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi
dan Sumberdaya Genetik Pertanian
2004

Penyimpanan Cendawan Blas *Pyricularia grisea* untuk Jangka Panjang

Bx. Ind 632.4
Bus
P

BK015770

Oleh :
Masdiar Bustamam
Mahrup

467/Br/2006

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian
2004

ISBN 979-3919-02-7

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan
Sumberdaya Genetik Pertanian
Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Tel. (0251) 337975, 339793
Faks. (0251) 338820
E-mail: borif@indo.net.id

KATA PENGANTAR

Blas adalah penyakit penting pada padi terutama padi gogo. Kerugian yang ditimbulkan akan sangat berarti apabila tanaman yang digunakan rentan penyakit blas. Karena itu, perakitan varietas unggul tahan blas selalu perlu dikembangkan. Suatu koleksi cendawan blas yang terpelihara viabilitas dan virulensinya sangat diperlukan untuk mendukung kegiatan pemuliaan tanaman terhadap penyakit blas baik untuk pemetaan gen tahan blas pada padi yang akan dijadikan tetua donor atau untuk mendukung studi biologi dari cendawan blas itu sendiri. Secara teori ada beberapa cara untuk penyimpanan koleksi cendawan blas untuk jangka panjang, namun metode yang ada tidak dapat digunakan pada semua kondisi. Karena itu, pada tulisan ini disajikan cara yang efektif, relatif lebih mudah dilaksanakan, dan murah.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
PENDAHULUAN	1
GEJALA PENYAKIT	3
PATOGEN PENYEBAB PENYAKIT	5
PRESERVASI MIKROBA	6
PRESERVASI CENDAWAN BLAS	8
KESIMPULAN	10
DAFTAR PUSTAKA	11

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Gejala Penyakit blas pada padi sawah di lahan petani (A dan B) ditandai oleh bercak berbentuk belah ketupat pada daun (C) 3

Gambar 2. Serangan penyakit blas pada padi 3

Gambar 3. Serangan blas pada tanaman dewasa mengakibatkan gabah hampa dan susutnya hasil panen petani (A dan B). Gejala busuk pada lidah daun (C) 4

Gambar 4. Gejala serangan *P. grisea* pada gabah dari empat varietas padi yang berbeda 4

Gambar 5. Ilustrasi siklus hidup cendawan *Pyricularia grisea* 5

Gambar 6. Bercak daun (A) dilembabkan (B), kelompok konidia (C), konidia berkecambah dan membentuk sel apresoria yang dilapisi melanin (D). Apresoria dengan tonjolan (E) untuk menembus dinding sel tanaman (F). Apresoria menembus epidermis tanaman (G) 6

Gambar 7. Kultur cendawan *P. grisea* pada media agar prune umur 4 hari (A) dan penyimpanan pada kertas saring (B) 8

Gambar 8. Persiapan penyimpanan cendawan *P. grisea* pada gabah kering 9

Gambar 9. Kultur cendawan *P. grisea* pada gabah kering siap disimpan pada suhu -20°C 10

PENDAHULUAN

Blas yang disebabkan oleh cendawan *Pyricularia grisea* (=*Pyricularia oryzae*), merupakan penyakit penting pada padi. Tidak saja karena luas penyebaran dan besar kerusakan yang ditimbulkannya (Dirjen Tanaman Pangan dan Hortikultura, 2000), cendawan blas penting karena kemampuannya menyerang berbagai tanaman (Ziegler, 1998), dan sebagai salah satu model ilmiah guna mempelajari hubungan antara tanaman inang dan patogen (Dean *et al.*, 1996; De Jong *et al.*, 1997; Jia *et al.*, 2000), bahkan akhir-akhir ini penyakit blas digolongkan pula sebagai *anticrop weapons* (Ban, 2000; Camoron dan Vogel, 2001; United States Embassy, 2002).

Dilaporkan bahwa akibat serangan penyakit blas, India menderita kerugian sebesar 266.000 ton atau setara dengan 0,8% total produksi padi, sementara di Jepang penyakit ini menyerang 865.000 ha padi. Di Filipina penyakit blas menyerang ribuan hektar sawah yang mengakibatkan kehilangan hasil mencapai 55% dari total produksi (Suparyono *et al.*, 2003).

Berlainan dengan di daerah subtropis, di daerah tropis penyakit blas umumnya lebih penting pada padi yang ditanam di lahan kering daripada di sawah beririgasi. Di Indonesia, penyakit blas tercatat sebagai salah satu faktor penghalang dalam peningkatan produksi padi gogo. Dari laporan Dirjen Tanaman Pangan dan Hortikultura (2000), serangan penyakit ini dari tahun ke tahun selalu meningkat. Laporan hingga tahun 1997 menunjukkan bahwa luas area serangan paling tinggi terjadi di daerah Jawa Barat, disusul Lampung, Sumatera Selatan, Nusa Tenggara Barat, Jawa Timur, dan Sumatera Utara.

Cendawan ini dapat menyerang tanaman pada semua umur, mulai dari persemaian hingga tanaman dewasa. Akan tetapi, kerugian akibat serangan penyakit di persemaian tidak separah serangan pada tanaman dewasa. Pada tanaman dewasa serangan penyakit blas menyebabkan susut hasil yang sangat berarti. Menurut informasi dari Konsorsium IRBG (*International Rice Blast Genome Project*) secara global kehilangan hasil akibat serangan penyakit blas diperkirakan mencapai 11-30% atau setara dengan 157 juta ton gabah per tahun. Pada kondisi yang kondusif untuk pertumbuhan dan penyebaran cendawan blas, di Indonesia petani di daerah Sukabumi, Jawa Barat pada tahun 1999 pernah mengeluhkan kehilangan hasil akibat serangan blas hingga 15-60%. Dari informasi terakhir yang diterima pada awal April 2004, petani di desa Bojong Kecamatan Cikembar Sukabumi mengeluhkan bahwa varietas Ciherang yang ditanam di lahan beririgasi hampir saja gagal dipanen akibat beratnya serangan busuk leher. Untung saja, petani

Hak Cipta ©, 2004 BB Biogen

masih dapat menyelamatkan tanaman mereka dengan penyemprotan fungisida Fujiwan.

Besarnya kerugian yang ditimbulkan menyebabkan semakin meningkatnya perhatian para ahli terhadap penyakit blas, mulai dari studi bioekologi dan keragaman genetik, sekuensing genomik DNA patogen dan tanaman (Dean dan Kulikowski, 2002), hingga meliputi aspek penanggulangan seperti perakitan varietas tahan, pembentukan tanaman transgenik, dan perakitan fungisida yang handal, dan lain-lain.

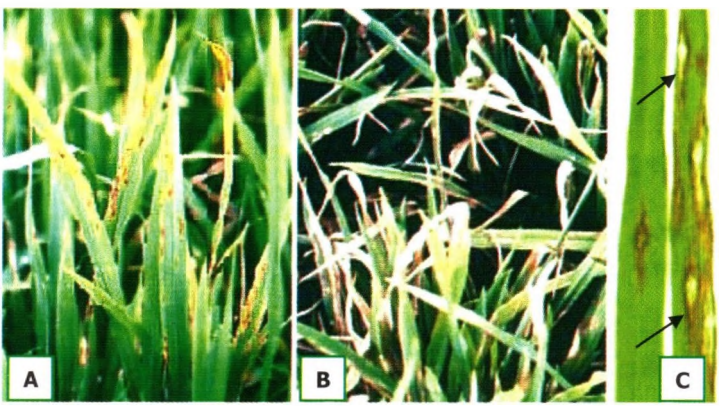
Menurut catatan dari Konsorsium IRBG untuk penanggulangan penyakit tanaman dengan pestisida tercatat bahwa hingga saat ini penyakit blas merupakan pasar fungisida terbesar di dunia. Sementara penanggulangan penyakit dengan fungisida tidak selalu dapat direkomendasikan pada petani karena harganya dirasa terlalu mahal terutama bagi petani miskin seperti petani padi gogo di Indonesia. Di samping itu, penggunaan fungisida secara umum dapat dikatakan tidak menguntungkan petani karena bahaya resistensi pestisida dan pencemaran lingkungan yang ditimbulkannya. Karena itu satu-satunya cara penanggulangan yang dapat dianjurkan pada petani adalah dengan menanam varietas tahan. Kesulitannya, karena perubahan struktur populasi cendawan blas di lapang sangat dinamis, ketahanan suatu varietas unggul tidak dapat berlangsung lama, sementara untuk merakit suatu varietas tahan diperlukan waktu paling sedikit 9 tahun.

Guna mengantisipasi hal tersebut di atas, maka penelitian untuk menemukan cara penanggulangan yang handal masih terus dikembangkan, baik melalui perakitan varietas yang mengandung piramida beberapa gen tahan atau perakitan beberapa varietas dengan gen ketahanan yang berbeda. Selain itu, penelitian kearah perbaikan cara bercocok tanam dan penempatan varietas tahan di lapang seperti yang dilakukan di daratan Cina (Kuyek, 2000; Tuite, 1969; Zhu *et al.*, 2000; Zhu *et al.*, 2003) sedang dikaji manfaat aplikasinya di ekosistem padi gogo Indonesia (Soenarjo *et al.*, 2004)

Untuk menunjang kegiatan tersebut, diperlukan koleksi cendawan blas yang terpelihara viabilitas dan virulensinya. Ada beberapa cara yang selama ini telah dianjurkan namun selalu saja dirasa kurang memuaskan karena penyimpanan isolat pada media basah (media agar) memerlukan cara pemeliharaan yang memakan waktu, biaya, dan tenaga. Karena itu, cara penyimpanan koleksi cendawan blas untuk jangka waktu panjang tanpa perubahan viabilitas dan virulensinya pada tanaman padi sangat dibutuhkan. Pada tulisan ini akan dibahas secara singkat metode yang biasa digunakan dan cara baru yang dianjurkan guna penyimpanan cendawan blas untuk jangka panjang.

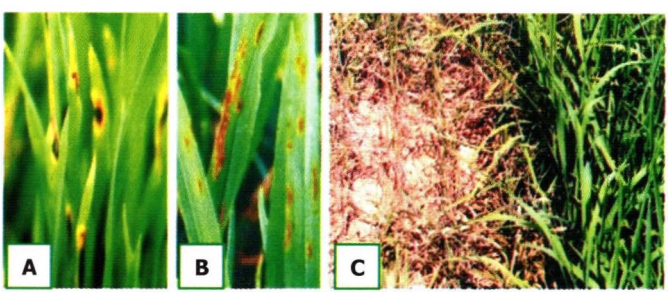
GEJALA PENYAKIT

Serangan penyakit blas pada daun dicirikan oleh bercak berbentuk belah ketupat, bercak yang sudah tua berwarna coklat tua bagian pinggirnya dan di tengahnya berwarna putih keabu-abuan (Gambar 1). Cendawan ini dapat menyerang tanaman mulai dari persemaian hingga tanaman dewasa, pada kondisi tertentu (varietas tanaman rentan, pupuk N tinggi, dan lain-lain) serangan blas pada daun dapat menyebabkan tanaman mati atau puso (Gambar 2 dan 3). Pada



Tanda panah menunjukkan bagian bercak daun yang bewarna putih abu-abu

Gambar 1. Gejala Penyakit blas pada padi sawah di lahan petani (A dan B) ditandai oleh bercak berbentuk belah ketupat pada daun (C)



A = di persemaian, B = tanaman stadia anakan, C = varietas rentan (puso) dan tahan penyakit blas

Gambar 2. Serangan penyakit blas pada padi

tanaman dewasa serangan dapat terjadi pada daun dan disebut sebagai blas daun (*leaf blast*), lidah daun dan tangkai malai (*neck blast*), ruas batang (*node blast*) serta gabah atau *panicle blast* (Ou, 1985; Scardaci *et al.*, 1997). Serangan berat pada lidah daun mengakibatkan terganggunya transportasi makanan dari akar ke daun sehingga daun menjadi mati. Demikian pula apabila serangan berat terjadi pada tangkai malai mengakibatkan tangkai malai patah atau terputusnya pengisian gabah sehingga gabah jadi hampa, sementara serangan berat pada gabah dapat menyebabkan rendahnya mutu gabah (Gambar 4).

Pada kondisi yang kondusif untuk pertumbuhan cendawan blas, seperti lingkungan dengan kelembaban dan temperatur yang menguntungkan atau varietas padi rentan blas, penggunaan pupuk tidak berimbang di mana N tinggi sedangkan P dan K rendah, maka luas bercak pada daun jadi melebar atau sambung menyambung satu dengan yang lainnya sehingga tanaman jadi kering (puso). Karena itu kerugian yang dihasilkan bervariasi, tergantung pada musim, ketahanan varie-

Gambar 3. Serangan blas pada tanaman dewasa mengakibatkan gabah hampa dan susutnya hasil panen petani (A dan B). Gejala busuk pada lidah daun (C)

Gambar 4. Gejala serangan *P. grisea* pada gabah dari empat varietas padi yang berbeda

tas, dan pemupukan. Seperti telah dikemukakan bahwa serangan penyakit pada tangkai malai dan ruas batang dapat mengakibatkan kegagalan panen yang cukup berarti karena tidak sempurnanya pengisian gabah sehingga gabah jadi hampa. Dari pengamatan di Sukabumi, Jawa Barat pada musim hujan 1998, karena ada perubahan cuaca yang sangat tajam, yaitu musim hujan pertama setelah musim kemarau panjang, petani mengeluhkan kerugian susut hasil panen hingga 68% akibat serangan blas pada daun, tangkai malai, dan gabah.

PATOGEN PENYEBAB PENYAKIT

Pyricularia grisea (Cooke) Sacc. atau dengan nama lama dikenal sebagai *Pyricularia oryzae* Cavara merupakan bentuk anomorph yang menyerang tanaman tergolong cendawan *Deuteromycetes.* Dalam bentuk telemorfik yang jarang terdapat di alam bebas tetapi sering digunakan dalam literatur untuk studi genetik cendawan ini dikenal sebagai *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr (Valent *et al.*, 1991; Ziegler, 1998).

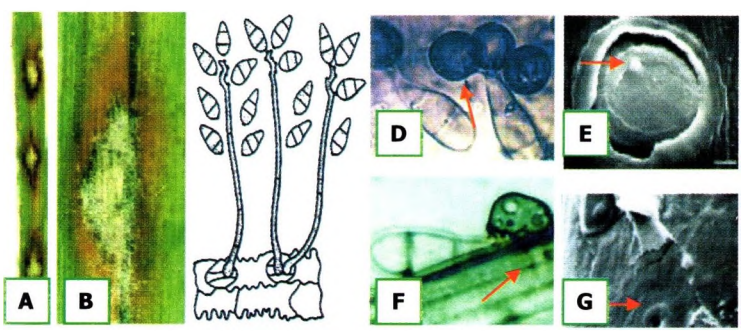
Siklus hidup cendawan (Gambar 5) ini terjadi apabila dari bercak pada bagian tanaman terinfeksi blas seperti daun, tangkai malai atau gabah terbentuk beribu-ribu spora atau konidia. Konidia berbentuk buah pear berukuran 20-22 x 10-12 m bersekat 2, *translucent*, dan sedikit berwarna abu-abu kehitaman terbentuk secara bergerombol pada konidiofora. Konidiofora bersekat 2-4, keluar dari stomata dari jaringan tanaman yang sakit dalam bentuk berkelompok atau klaster (Harmon dan Laltin, 2003). Apabila konidia jatuh pada permukaan daun atau bagian tanaman

Gambar 5. Ilustrasi siklus hidup cendawan *P. grisea*

lainnya dan kondisi lingkungan membantu untuk pertumbuhan (seperti adanya air pada permukaan daun dan lain-lain) maka konidia akan berkecambah membentuk tabung kecambah (*germ tube*) yang kemudian membentuk apresoria. Apresoria diperlukan sebagai organ tempat terjadinya infeksi pada epidermis tanaman. Apresoria dilengkapi dengan dinding yang dilapisi melanian yang berwarna abu-abu gelap (Gambar 6). Infeksi tanaman terjadi akibat tekanan mekanik (Howard, 1994; Zhu *et al.*, 2003) karena tingginya tegangan osmotik dari senyawa gliserol di dalam apresoria (De Jong *et al.*, 1997).

PRESERVASI MIKROBA

Salah satu cara yang umum dilakukan untuk menyimpan suatu koleksi mikroba adalah dengan memindahkan biakan murni dari satu media ke media baru secara periodik. Namun cara ini tidak efisien, memerlukan ketelitian yang tinggi baik waktu memindahkan maupun waktu penyusunan ulang *database*. Kesulitannya, pemindahan kultur murni secara periodik butuh tenaga khusus, memakan waktu perawatan, biaya besar, dan berpeluang kontaminasi pada waktu pemindahan. Besarnya risiko kontaminasi pada cara ini memungkinkan hilang/musnah koleksi tertentu. Kerugian besar baru dirasakan apabila hal ini terjadi pada isolat yang penting sementara duplikasinya juga rusak. Hal lain yang perlu dipertimbangkan adalah perubahan virulensi, karakterisasi kultur, dan berkurangnya kemampuan untuk bersporulasi yang sering terjadi pada biakan murni terutama bila kultur sering dipindahkan dari satu media ke media baru. Karena itu cara penyimpanan kultur murni selalu perlu diperhatikan untuk menjaga akurasi koleksi plasma nutfah



Gambar 6. Bercak daun (A) dilembabkan (B), kelompok konidia (C), konidia berkecambah dan membentuk sel apresoria yang dilapisi melanin (D). Apresoria dengan tonjolan (E) untuk menembus dinding sel tanaman (F). Apresoria menembus epidermis tanaman (G)

mikroba seperti *P. grisea.* Secara umum cara penyimpanan mikroba dapat dilakukan sebagai berikut:

Memindahkan Biakan secara Periodik

Cara ini umum digunakan untuk kultur aktif, di mana biakan digunakan secara rutin. Seperti yang telah dikemukakan, cara ini tidak dapat dianjurkan untuk penyimpanan jangka panjang. Untuk mengurangi frekuensi pemindahan kultur dari media yang tua ke media baru dianjurkan agar patogen dibiakkan pada media yang miskin gula seperti agar wortel, agar jus V-8, atau PDA. Cendawan ditumbuhkan pada agar miring dan disimpan dalam lemari dingin (4-5°C), untuk preservasinya biakan dipindahkan ke media baru secara periodik minimal 2 kali setahun.

Biakan Dilapisi Parafin Cair

Untuk tujuan ini digunakan parafin cair yang mempunyai tingkat kemurnian tinggi (*medicinal grade*). Biakan ditumbuhkan pada agar miring dalam test tube bertutup plastik berulir (*screw cap*). Setelah umur biakan cukup, maka ditambahkan parafin cair yang telah disterilkan hingga menutupi biakan setinggi 1 cm di atas media. Untuk menjaga kontaminasi, leher test tube atau bagian atas biakan harus dijaga agar tidak terkena parafin, karena itu parafin ditambahkan dengan pipet kaca yang steril. Apabila disimpan pada suhu 5-10°C, kultur dapat bertahan selama satu tahun. Kelemahannya, walaupun sudah disimpan pada suhu dingin, kontaminasi *Penicillium* yang dapat tumbuh pada parafin cair masih mungkin saja terjadi (United States Embassy, 2002).

Pembekuan/Pendinginan (*Freezing*)

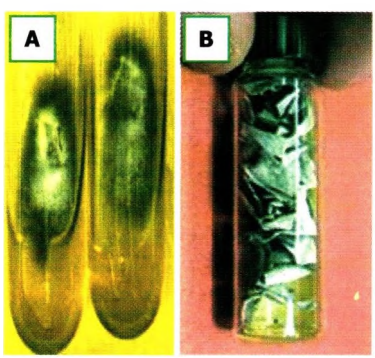
Penyimpanan dapat dibedakan antara penyimpanan dalam *deep freezer* suhu dari -10 hingga -60°C dan penyimpanan *cryogenic* dalam larutan nitrogen dengan suhu 100-196 di bawah 0°C. Teknik penyimpanan dengan cara pembekuan adalah yang paling efektif namun kemampuan menjaga suhu selalu dingin sesuai yang dianjurkan harus betul-betul diperhatikan. Konidia dapat disimpan dalam ampul yang berisi *skim milk* atau dalam larutan gliserol 10%. Menurut Tuite (1969) untuk penyimpanan secara *cryogenic*, mikroba terlebih dahulu harus disimpan dalam microtube, ditambah bahan pengawet seperti gliserol (10-20%), dimethylsulfoxide (10%), glukosa atau sukrosa 10%. Di samping penambahan bahan pengawet perlu pula diperhatikan perubahan suhu yang tajam pada awal penyimpanan dan pada waktu mengeluarkan spesimen dari penyimpanan, karena perubahan suhu yang drastis dapat merusak kehidupan mikroba. Untuk itu, pendinginan dilakukan secara bertahap dengan cara menyimpan kultur pada suhu -20°C selama dua hari

sebelum didinginkan dalam tangki nitrogen cair. Akan tetapi, waktu mengeluarkan kultur dari *cryogenic* untuk digunakan, dilakukan secepat mungkin dengan mencelupkannya pada air panas suhu 38-40°C selama 1-2 menit.

PRESERVASI CENDAWAN BLAS

Cendawan blas, *P. grisea* biasanya ditumbuhkan pada media PDA (potato dextrose agar) atau agar prunus (Gambar 7) dan disimpan pada suhu 4-10°C. Cara ini hanya dapat bertahan paling lama 2-3 bulan saja, karena itu untuk menjaga agar biakan tidak kering maka cendawan harus dipindah pada media baru secara periodik. Selain membutuhkan tenaga khusus, biaya pemeliharaan untuk jangka panjang relatif tinggi, koleksi yang dapat disimpan sangat terbatas jumlahnya dan pertukaran kultur media pada agar miring dengan laboratorium yang jaraknya berjauhan atau dipertukarkan dengan laboratorium di luar negeri tidak mudah.

Untuk mengatasi hal ini telah dikembangkan beberapa cara penyimpanan seperti pada biji sorgum atau pada potongan kertas saring yang biasa dilakukan di IRRI. Dengan menyimpan miselium cendawan pada potongan kertas saring (Harmon dan Laltin, 2003; Valent *et al.*, 1991), memudahkan untuk pertukaran isolat dari satu negara ke negara lain. Untuk itu, isolat ditumbuhkan pada cawan petri yang berisi media oatmeal, setelah cendawan *P. grisea* tumbuh dengan baik (±4 hari) pada kultur ditambahkan potongan kertas saring steril (0,5 cm^2), kemudian cendawan diinkubasikan pada suhu kamar (25°C) hingga miselium

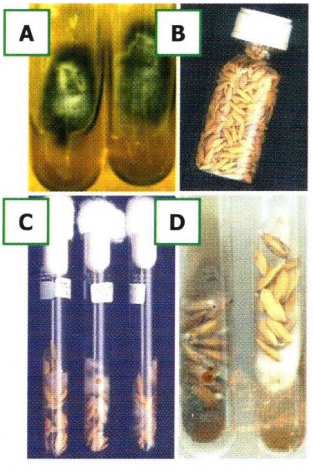


Gambar 7. Kultur cendawan *P. grisea* pada media agar prune umur 4 hari (A) dan penyimpanan pada kertas saring (B)

Sumber: Harmon dan Laltin (2003)

menutupi potongan kertas saring. Kertas saring yang telah ditumbuhi miselium kemudian dipindah ke dalam amplop *kertas glassine steril* dan dikeringkan dalam desikator selama 2 minggu pada suhu -20°C atau ke dalam botol (Gambar 7). Sehingga koleksi disimpan dalam bentuk miselium yang menempel pada kertas saring pada suhu -70°C (Valent *et al.*, 1991)

Caranya, sebelum disimpan biakan murni dari suatu isolat ditumbuhkan pada media agar (PDA atau agar prunus) selama 4 hari. Kemudian ditambahkan gabah kering yang telah mengalami 2 kali sterilisasi kering. Kultur disimpan pada suhu kamar (25°C) hingga gabah yang ditambahkan ditutupi oleh miselia cendawan blas (Gambar 8). Setelah tiga sampai lima minggu gabah yang telah ditutupi cendawan, dikeluarkan dari test tube untuk segera dipindahkan ke mikrotube 1,5 ml (Gambar 9). Pada saat ini, kultur sangat sensitif terhadap kontaminasi, karena itu ketelitian dan kebersihan kerja perlu diperhatikan. Kemudian koleksi siap disimpan dalam desikator kedap udara pada suhu dingin (-20°C) untuk lebih memperpanjang umur penyimpanan sebaiknya koleksi disimpan pada suhu -700°C. Karena kemudahan mendapatkan bahan untuk media, menyimpan, dan memeliharanya maka penyimpanan pada gabah kering adalah cara yang sangat efektif yang kami dapatkan dan sekarang rutin digunakan di Laboratorium Biologi Molekuler, BB-Biogen.



A = cendawan ditumbuhkan pada media agar prunus selama 4 hari, B = gabah 2 kali sterilisasi kering, C dan D = gabah kering pada media prunus yang telah ditumbuhi cendawan blas

Gambar 8. Persiapan penyimpanan cendawan *P. grisea* pada gabah kering

Gambar 9. Kultur cendawan *P. grisea* pada gabah kering siap disimpan pada suhu -20°C

Agar koleksi menjadi lebih berpotensi untuk keperluan di masa mendatang, seyogianya isolat yang disimpan didaftar dan dikatalogkan. Untuk kesempurnaan *database*, maka koleksi disertai informasi yang jelas tentang asal usul isolat baik lokasi, tanaman inang atau waktu isolasi. Karakterisasi lain seperti morfologi, fisiologi, data virulensi, dan data sidikjari DNA perlu juga disertakan, sehingga pengguna dapat memilih isolat sesuai dengan kebutuhan penelitian yang diinginkan.

KESIMPULAN

1. Blas adalah penyakit penting pada padi terutama pada padi gogo. Kerugian yang ditimbulkan akan sangat berarti apabila tanaman yang digunakan rentan penyakit blas.
2. Suatu koleksi cendawan blas yang terpelihara viabilitas dan virulensinya sangat diperlukan untuk mendukung kegiatan pemuliaan tanaman termasuk pemetaan gen tahan blas, penentuan sumber gen untuk persilangan, atau untuk mendukung studi biologi dari cendawan blas itu sendiri.
3. Untuk jangka pendek cendawan blas dapat disimpan pada media agar miring (PDA, agar prunus, dan lain-lain).
4. Untuk jangka panjang cendawan blas disimpan pada gabah di dalam mikrotube (1,5 -2 l). Blas adalah penyakit penting pada padi terutama padi gogo. Kerugian yang ditimbulkan akan sangat berarti apabila tanaman yang digunakan rentan penyakit blas.

DAFTAR PUSTAKA

Ban, J. 2000. Agricultural biological walfare an overview. CBACI. http: //www.cbci.org. 13 Februari, 2004. 10.00 WIB. p. 1-8.

Camoron G.J. Pate and K.M. Vogel. 2001. Planting fear. How real is the threat of agricultural terrorism?. The Buletin of Atomic Scientists 57(5):38-44.

Dean, R.A., B.P. Blackman, J.C. Brooks, R.D. Gilbert, S. Liu, T.K. Mitchell, M.T. Stich, and H. Zhu. 1996 Cell surface communication in appresorium development by *Magnaporthe grisea*. *In* Mills, D., H. Kunoh, N.T. Keen, and S. Mayama (*Eds.*). Molecular Development Aspect of Pathogenicity and Resistance: Requirement for Signal Transduction. APS Press. St. Paul, Minnesota. p. 59-71.

Dean, R. and M. Kulikowski. 2002. Scientist sequence genome of rice-killing fungus. http://www.globaltechnoscan.com/1stAugt-7thAug02/rice-fungus htm.

De Jong, J.C., B.J. McCormack, N. Samirhoff, and J. Talbot. 1997. Glycerol genarate turgor in rice blast. Nature 389:244.

Dirjen Tanaman Pangan dan Hortikultura. 2000. Perkembangan serangan OPT padi selama 5 tahun (1994-1998). Direktorat Bina Perlindungan Tanaman. Dirjen Tanaman Pangan dan Hortikultura, Jakarta.

Harmon, P.F. and R. Laltin. 2003. Gray leaf spot of perennial ryegrass. Plant management Network. http://www.plantmanagementnetwork.org/php/.

Howard, R.J. 1994. Cell biology of pathogenesis. *In* Ziegler, R.S., S.A. Leong, and P.S. Teng (*Eds.*). Rice Blast Disease. CAB and IRRI publication. p. 3-21.

Jia, Y., S.A. McAdams, G.T. Bryan, H.P. Hershey, and B. Valent. 2000. Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. The EMBO 19(15):4004-4014.

Kuyek, D. 2000. Blast biotech and big business: Implication of corprate strategies on rice research in Asia. http://www.grain.org/publications/reports/blast htm.

Ou, S.H. 1985. Rice disease. 2nd eddition, Commonwelth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 380 p.

Scardaci S.C., R.K. Webster, C.A. Greer, J.E. Hill, J.F. Williams, R.G. Mutters, D.M. Brandon, K.S. McKenzie, and J.J. Oster. 1997. Rice blast: A new disease in California. Agronomy Fact Sheet Series 1997-2. Departement

of Agronomy and Rang Science, University of California, Davis. http: //agronomy.ucdavis.edu/uccerice/AFS/agfs0297.htm. 6 Februari 2004. 9.30 WIB.

Soenarjo, E., Suwarno, B. Kustianto, E. Lubis, Santoso, E. Javier, and M. Laza. 2004. Participatory varietal selection. The Progress Report of Indonesian Institute for Rice Research, PAATP, and CURE Project of IRRI on Advanced Yield Trial: The Field Day and on Farm Varietal Trial. 11 p.

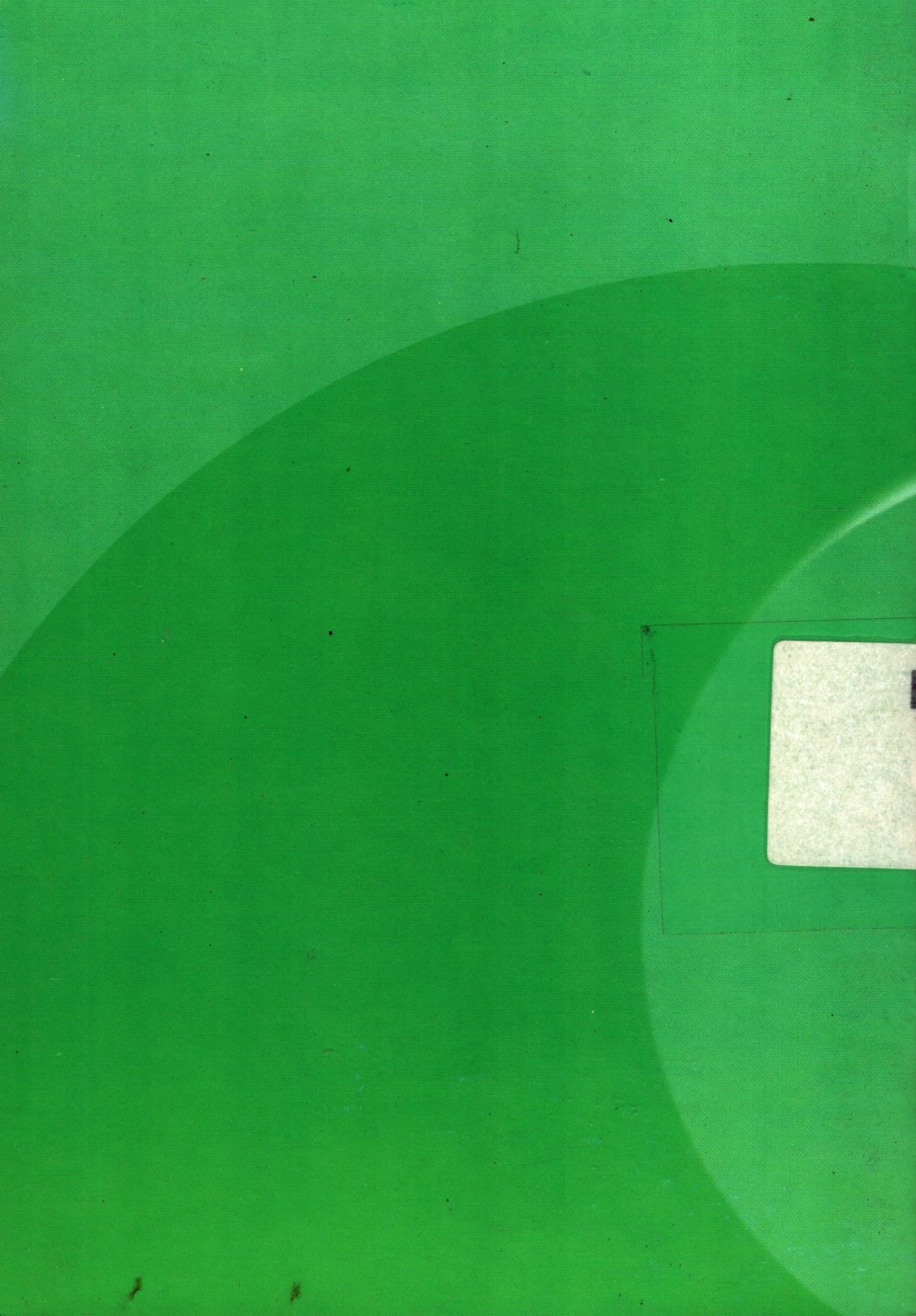
Suparyono, J.L., A. Catiding, and I.P. Ona. 2003. Rice doctor: International Rice Research Institute. http://www/knowledgebank.irri.org/riceDoctor_MX/Fact_Sheets/Diseases/Rice_Blast.htm.

Tuite, J. 1969. Plant pathological methods. Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minn. 55415. 239 p.

United States Embassy. 2002. First of crop killer's genome sequence available. http://cns.miis.edu/research/cbw/agromain.htm 13 Februari, 2004. 10.53 WIB.

Valent, B., L. Farrall, and F.C. Chumley. 1991. *Magnaporthe grisea* genes for pathogeneicity and virulence identification through a series of backcrosses. Geneticas 127:87-101.

Zhu, Y., H. Chen, J. Fan, Y. Wang, Y. Li, J. Chen, J. Fan, S. Yang, L. Hu, H. Leung, T.W. Mew, P.S. Teng, Z. Wang, and C.C. Mundt. 2000. Genetic diversity and disease control in rice. Nature 406:718-722.

Zhu, Y., Y. Wang, H. Chen, and B.R. Lu. 2003. Concervating traditional rice varieties through management for crop diversity. BioScience 53:158-162.

Ziegler, R.S. 1998 Recombination in *Magnaporthe grisea*. Annu. Rev. Phytopathol. 36:249-75.