

Penggunaan Marka Molekuler dalam Perbaikan Ketahanan Varietas Padi terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri di Indonesia

Bustamam, M¹., M. Yunus¹, A. Warsun¹, Suwarno¹, H.R. Hifni², dan T.S. Kadir²

¹Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor

²Balai Penelitian Tanaman Padi, Sukamandi

ABSTRAK

Penyakit hawar daun bakteri, selanjutnya disebut HDB (*Bacterial Leaf Blight*, BLB) merupakan salah satu penyakit penting pada padi terutama pada padi sawah yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (ex. Ishiyama). Penanaman varietas tahan merupakan cara yang efektif dan ekonomis untuk pengendalian serangan HDB. Oleh karena itu, perakitan varietas unggul baru yang membawa gen ketahanan terhadap HDB terus dilakukan. Ketahanan varietas tanaman sangat erat hubungannya dengan variasi genetik di lapang. Dengan uji virulensi patogen pada tanaman diferensial, telah dilaporkan adanya sebelas kelompok strain HDB. Bertambahnya daerah penanaman IR64 mengakibatkan bertambah luasnya daerah sebaran HDB kelompok IV. Kelompok IV ini merupakan strain yang sangat virulen di mana varietas padi yang membawa gen ketahanan terhadap HDB strain IV ini belum diketahui hingga penelitian ini dilakukan. Perkembangan ilmu dalam bidang biologi molekuler telah memberi alternatif lain dalam mempelajari variasi genetik dan struktur populasi patogen serta untuk penelusuran dan seleksi persilangan varietas yang membawa gen tahan penyakit HDB. Pada tulisan ini akan disampaikan penggunaan beberapa marka DNA untuk analisis variasi genetik dan struktur populasi HDB di Indonesia, di samping marka DNA untuk penandaan dan pemetaan gen ketahanan varietas Cisadane terhadap HDB, serta marka DNA untuk perbaikan ketahanan IR64 dengan tanaman isogenik yang membawa gen tahan HDB yang efektif seperti *xa-5*, *Xa-7*, dan *Xa-21*.

Kata kunci: marka molekuler, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, variasi genetik, ketahanan varietas padi.

ABSTRACT

Bacterium Leaf Blight (BLB) is one of the important rice diseases, particularly in lowland rice. BLB is caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (ex. Ishiyama). Planting resistant varieties is an effective and economic way in controlling the disease. Therefore, the development of new varieties which carry genes for resistant to BLB has been continuously carried out. The resistance of plant variety is strongly related to the genetic variation in the field. Through pathogen virulent test on differential plants, it was reported that there were eleven BLB strain groups. The increase in IR64 area results in the increase of BLB group IV infestation. The group IV was the most virulent strain where the rice variety which carries gene resistant to BLB strain IV has not been found until this research was conducted. The development of science in molecular biology has given other alternative in studying genetic variation and pathogen population structure, and in retrieving and selecting varieties that carry genes for resistant to BLB. This paper explains the utilization of several marks of DNA for analyzing the genetic variation and

BLB population structure in Indonesia, beside the DNA markers for marking and mapping of Cisadane variety genes which were resistant to BLB and DNA marks for the improvement of IR64 resistance with the isogenic plants which carry genes resistant to BLB, such as Xa-5, Xa-7, and Xa-21.

Key words: Molecular mark, *Xanthomonas oryzae*, pv. *oryzae*, genetic variation, rice resistant variety.

PENDAHULUAN

Guna memenuhi kebutuhan penduduk yang jumlahnya semakin bertambah besar, maka produksi padi harus ditingkatkan. Salah satu kendala dalam usaha mempertahankan swasembada dan peningkatan produksi beras adalah serangan hama dan penyakit.

Penyakit hawar daun bakteri, selanjutnya disebut HDB (*Bacterial Leaf Blight*, BLB) merupakan salah satu penyakit penting pada padi terutama padi sawah (Ou, 1985) yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (ex. Ishiyama 1922) Comb. Nov. (Swings *et al.*, 1990). Serangan HDB dapat terjadi pada tahap pesemaian, yang dikenal sebagai penyakit "kresek" (Reitsma dan Schure, 1950), atau pada tahap lanjut dari pertumbuhan tanaman padi (Petpisit *et al.*, 1977).

Secara kumulatif luas serangan HDB di Indonesia dalam periode 1986-1990 mencapai 76.740 ha, sehingga dapat dikatakan bahwa HDB merupakan penyakit terpenting pada padi sawah. Kerusakan yang ditimbulkannya terus meningkat dan mencapai puncaknya pada tahun 1989 dengan luas serangan 26.340 ha (Direktorat Bina Perlindungan Tanaman Pangan, 1992). Meningkatnya serangan penyakit ini diperkirakan erat kaitannya dengan bertambah luasnya daerah penanaman varietas unggul tahan wereng coklat, tetapi rentan terhadap serangan HDB (Kardin dan Hifni, 1992).

Penanaman varietas tahan merupakan cara yang efektif dan ekonomis untuk pengendalian serangan HDB. Oleh karena itu, perakitan varietas unggul baru yang membawa gen ketahanan terhadap penyakit HDB terus dilakukan. Ketahanan varietas tanaman sangat erat hubungannya dengan variasi genetik di lapang. Dengan menguji virulensi HDB pada satu set tanaman diferensial yang mempunyai gen ketahanan berbeda-beda terhadap penyakit ini, telah terdeteksi sebelas kelompok strain HDB (Hifni dan Miharja, 1994).

Perkembangan ilmu dalam bidang biologi molekuler telah memberi alternatif lain dalam analisis variasi genetik dan struktur populasi patogen HDB (Nelson *et al.*, 1996). Pemantauan variasi genetik dan perubahan struktur populasi patogen sangat erat kaitannya dengan manajemen tanaman, terutama dalam perakitan dan penempatan varietas tahan di lokasi tertentu (*gen deployment*).

Selain untuk analisis variasi genetik patogen, marka molekuler telah banyak pula digunakan dalam program pemuliaan tanaman. Misalnya untuk seleksi ketahanan varietas padi menurut pola pita DNA yang polimorfis pada RFLP (McCouch dan

Tanksley, 1991) atau berdasarkan hasil penggandaan rantai DNA tertentu pada mesin PCR (McCouch *et al.*, 1996). Hal ini dapat terjadi karena potongan rantai DNA memberikan gambaran yang jelas dan informatif pada gel agarose, dan dapat dipantau melalui ada atau tidaknya segmen kromosom pembawa gen atau alel yang diinginkan.

Analisis segregasi tanaman dengan marka molekuler menjanjikan beberapa keuntungan dibandingkan dengan analisis konvensional, antara lain: (i) reaksi atau segregasi tanaman yang dihasilkan bersifat kodominan dan sesuai dengan hukum Mendel, (ii) data yang diamati tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan atau oleh stadia umur tanaman, (iii) pengamatan umumnya dapat dilakukan sedini mungkin tanpa merusak pertumbuhan tanaman, dan (iv) marka molekuler mampu menyeleksi beberapa sifat tanaman dalam waktu bersamaan sehingga efisiensi pengamatan dapat ditingkatkan (Burr *et al.*, 1983; McCouch dan Tanksley, 1991).

VARIASI GENETIK BAKTERI *X.O. ORYZAE* DI INDONESIA

Secara konvensional variasi genetik HDB, ditentukan menurut hasil uji virulensi patogen pada satu set tanaman diferensial. Umumnya tanaman diferensial mempunyai latar belakang gen ketahanan yang berbeda-beda untuk tiap patogen tertentu. Informasi yang dihasilkannya telah banyak memberikan sumbangan dalam penanggulangan penyakit tanaman, seperti halnya penyakit blas pada padi (Ahn dan Amir, 1985; Amir, 1995; Notteghem *et al.*, 1994), atau penyakit busuk pangkal batang oleh *Fusarium* pada bunga bakung (Löffler *et al.*, 1995).

Dengan menggunakan tanaman diferensial Jepang pada uji virulensi patogen HDB di Indonesia, (Swings *et al.*, 1990) dapat mendeteksi tiga kelompok bakteri *X.o. oryzae*. HDB Kelompok III, merupakan strain yang dominan di Sulawesi Selatan, Kalimantan, Jawa, dan Bali. Kelompok IV merupakan strain yang sangat virulen, ditemukan di Jawa, Bali, dan Sulawesi Selatan. Sementara kelompok V, hanya ditemukan di pulau Bali. HDB kelompok I dan II yang umum terdapat di Jepang, tidak ditemukan di Indonesia. Selanjutnya pada tahun 1978 dan 1986 dari uji virulensi pada tanaman diferensial, tiga kelompok HDB ditemukan, yaitu kelompok VI, VII, dan VIII (Horino dan Hifni, 1978; Hifni, 1986). Terakhir dilaporkan bahwa dengan uji virulensi pada tanaman diferensial, telah terdeteksi sebelas kelompok HDB (Hifni dan Miharja, 1994). Kelompok IV yang dahulunya bukanlah strain yang dominan, dengan bertambah luasnya daerah penanaman IR64, maka kelompok IV menjadi strain yang dominan di seluruh pulau Jawa dan Bali, di samping kelompok VIII yang juga merupakan kelompok dominan di daerah Jawa Barat.

Menurut Leach dan White (1990), sekalipun data yang diperoleh dari uji virulensi sangat berguna bagi ahli penyakit dan pemulia tanaman, informasi yang dihasilkannya tidak sepenuhnya dapat menggambarkan situasi populasi patogen di

lapang. Ini disebabkan oleh kecilnya sampel yang dapat dianalisis, sehingga data yang diperoleh tidak mewakili situasi populasi patogen lokasi tertentu.

Selain uji virulensi pada tanaman diferensial, genetika populasi HDB dapat pula diteliti dengan penentuan serologi, komposisi asam lemak dan analisis isoenzim (Alvarez *et al.*, 1989). Akan tetapi semua metode tersebut umumnya agak rumit, dan tidak praktis digunakan untuk menganalisis sampel dalam jumlah besar.

Marka DNA yang dapat digunakan untuk analisis genetika populasi patogen, telah banyak tersedia. Seperti halnya penggunaan marka DNA untuk analisis segregasi tanaman, analisis variasi genetik patogen dengan marka DNA juga mempunyai beberapa keunggulan, terutama untuk menganalisis sampel dalam jumlah besar pada waktu yang relatif pendek, serta pelaksanaan dan interpretasi data yang mudah dan cepat. Analisis dengan marka molekuler tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan, seperti temperatur, pemupukan, umur tanaman, dll.

Beberapa elemen loncat yang diisolasi dari genom *X.o. oryzae* seperti TNX1 yang kemudian disebut IS1113, TNX6, TNX7 dan TNX8 atau pJEL 101 yang dikenal juga dengan IS1112, telah digunakan untuk mengukur variasi genetik dan struktur populasi bakteri HDB (Ardales *et al.*, 1996; Leach *et al.*, 1992; Nelson *et al.*, 1994). Menurut Nelson *et al.* (1996), elemen loncat yang pertama yang digunakan untuk mengukur variasi genetik bakteri HDB (*X.o. oryzae*) adalah elemen berulang pJEL101, yang diklonkan dari bakteri *X.o. oryzae* (Leach *et al.*, 1992). Variasi genetik patogen HDB dapat juga dianalisis dengan DNA penanda dari klon DNA gen pengatur virulensi seperti Avr Xa-10. Klon Avr Xa-10 diisolasi dari strain *X.o. oryzae* yang mempunyai tingkat virulensi yang bersesuaian dengan gen ketahanan Xa-10 pada padi (Hopkins *et al.*, 1992; Nelson *et al.*, 1996).

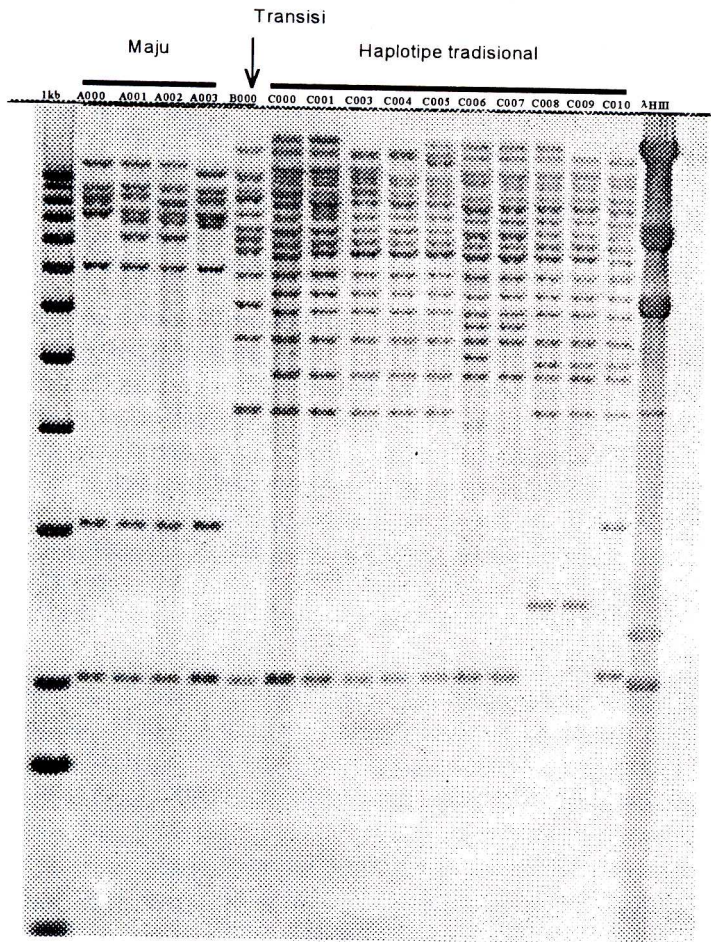
Selain teknik RFLP, akhir-akhir ini telah dikembangkan teknik amplifikasi DNA *X.o. oryzae* dengan mesin PCR, yang disebut dengan LM-PCR (George *et al.*, 1994; 1995). Dengan teknik ini digunakan primer dengan rantai oligonukleotida yang direkayasa sesuai dengan ujung-ujung elemen loncat marka DNA pJEL (George *et al.*, 1995).

Variasi Genetik Bakteri HDB dengan Marka DNA di Indonesia

Di samping uji virulensi pada tanaman diferensial, beberapa marka DNA telah pula digunakan untuk mengukur variasi genetik dan struktur populasi *X.o. oryzae* (Xoo) di Indonesia (Bustamam, Laporan intern ARBN 1995).

Sebanyak 551 isolat Xoo yang dikumpulkan dari 23 kabupaten di pulau Jawa dan 7 kabupaten di Bali dalam kurun waktu 20 tahun (1974 -1994). Ekstraksi DNA patogen dilakukan dengan CTAB-NaCl sesuai dengan metode yang digunakan oleh Ardales *et al.* (1996). Fragmen *Eco*-R1 dari DNA terekstrak, dihibridisasikan dengan DNA penanda IS1113 berlabel dig-dUTP, (bahan bukan radioaktif dari Boehringer

Mannheim). Hibridisasi DNA *Xoo* dengan DNA penanda *IS1113* menghasilkan 15 macam DNA profil (Gambar 1), yang untuk selanjutnya disebut sebagai "haplotipe *IS1113*".



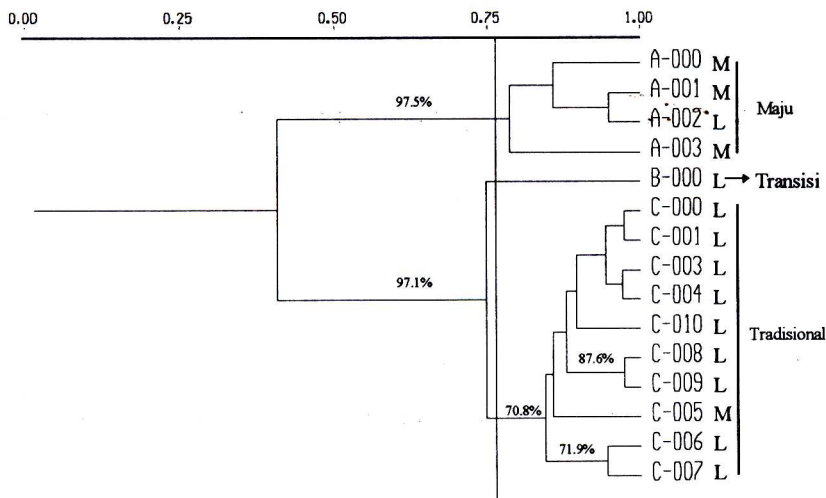
Gambar 1. Profil sidikjari DNA *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dihibridisasi dengan DNA penanda elemen berulang *IS1113*. Paling kiri dan kanan adalah marka molekuler 1 kb ladder dan λ DNA (dipotong dengan *HindIII*), berturut-turut dari kiri ke kanan adalah Haplotipe *IS1113*, yaitu A-000, A-001, A-002, A-003, B-000, C-000, C-001, C-003, C-004, C-005, C-006, C-007, C-008, C-009 dan C-010.

Dari ke-15 haplotipe yang terdeteksi, haplotipe A-003 menduduki 50,27% dari total populasi yang dianalisis. Haplotipe ini dijumpai pada sampel *Xoo* yang berasal dari seluruh area survei di Jawa, tetapi tidak dijumpai pada sampel asal Bali. Apakah hal ini disebabkan oleh karena total sampel HDB dari Bali relatif lebih kecil dibandingkan dengan sampel dari daerah lainnya, atau karena faktor lain yang betul-betul mempengaruhi keberadaan haplotipe A-003 di Bali masih perlu penelitian lebih lanjut. Haplotipe IS1113 dominan lainnya adalah A-001 (frekuensi 47,00% dari total populasi yang dianalisis). Haplotipe A-001 ini dijumpai pada sampel yang berasal dari seluruh daerah survei di Jawa dan Bali. Haplotipe lainnya dijumpai dengan frekuensi yang sangat rendah (0,18-0,3%) seperti haplotipe A-000, A-002, B-000, C-000, C-001, C-003, C-004, C-005, C-006, C-007, C-008, C-009 dan C-010 yang untuk selanjutnya disebut sebagai *haplotipe langka*.

Analisis kluster pada UPGMA dalam program NTSYS menunjukkan bahwa pada 75% tingkat kemiripan (*similarity*), ke-15 haplotipe IS1113 ini terkelompok menjadi tiga famili yang disebut sebagai lineage A, B, dan C (Gambar 2). Tanpa memandang jarak dan letak geografi tempat asal isolat dari tiap kabupaten di Jawa dan Bali, dapat dikatakan bahwa lineage A menduduki 97% dari total koleksi *Xoo* yang dianalisis. Haplotipe A-001 dan A-003 dari lineage A umumnya dijumpai pada isolat yang berasal dari berbagai macam varietas padi, terutama dari varietas unggul (*improved cultivar*). Kecuali A-000 dan A-002, haplotipe IS1113 dengan frekuensi rendah (*haplotipe langka*) jatuh pada lineage B (0,37%) dan lineage C (2,27%). Hampir seluruh *haplotipe langka* dijumpai pada varietas padi lokal atau dari varietas padi unggul yang ditanam di sawah dengan rotasi padi lokal dan padi unggul (C-005 pada Gambar 2 diperoleh dari IR52). Haplotipe C-004, C-006, C-007, dan C-009 dari lineage C dijumpai pada isolat yang berasal dari padi Pandan Wangi yang ditanam di daerah Cianjur Jawa Barat.

Dari penelitian ini dapat dikatakan bahwa hubungan antara inang dan patogen sangat berperan dalam pengaturan variasi dan struktur populasi *Xoo* di Jawa dan Bali. Tingginya frekuensi A-001 dan A-003 dari lineage A menggambarkan eratnya kaitan penyebaran haplotipe IS1113 dengan luas areal penanaman padi unggul, terutama IR64.

Dilihat dari jumlah pita DNA (locus *Xoo*) yang terdeteksi pada haplotipe langka diperkirakan bakteri *Xoo* dari lineage C merupakan strain “indigenous” Indonesia dengan kemampuan beradaptasi yang sangat tinggi pada padi unggul. Diperkirakan tingginya kemampuan beradaptasi pada varietas unggul, mengakibatkan pita-pita DNA (loci) yang pada mulanya diperlukan untuk dapat bertahan atau menyerang padi lokal, menjadi berkurang. Karena itu, lineage A dianggap sebagai kelompok bakteri yang lebih maju dan lineage C sebagai kelompok tradisional yang kemungkinan makin lama akan makin punah, sementara lineage B merupakan bentuk transisi dari lineage C ke lineage A. Lineage B dengan haplotipe B-000 dijumpai pada tanaman padi IR64 dan IR42 di daerah Subang, Jawa Barat.



Gambar 2. Dendrogram IS1113 dari Populasi *X. oryzae* pv. *oryzae* di Jawa dan Bali.
L = Varietas lokal, M = Varietas unggul

Selain dari marka DNA IS1113, telah digunakan pula klon DNA dari gen avirulen (Avr Xa-10) yang sesuai dengan gen ketahanan Xa-10 (Hopkins *et al.*, 1992). Hasil analisis RFLP dengan DNA penanda Avr Xa-10 dari 402 isolat *Xoo* yang dikoleksi dari berbagai tempat di Indonesia didapatkan 51 haplotipe, di mana haplotipe C, K, dan L merupakan profil Avr Xa-10 yang paling dominan dan lainnya merupakan haplotipe dengan frekuensi yang sangat rendah (masing-masing 1-2 isolat). Hubungan tingkat kemiripan dan variasi genetik antarisolat dengan marka ini masih sedang dianalisis.

Untuk mengetahui hubungan variasi genetik *Xoo* di Indonesia dengan *Xoo* negara tetangga di daerah Asia Tenggara, telah dilakukan pula analisis sidikjari DNA dengan *ligation-mediated-PCR* (LM-PCR) dari isolat HDB yang mewakili masing-masing haplotipe-IS1113. Penelitian ini menunjukkan bahwa walaupun letak geografi antara Indonesia dan Filipina sangat berbeda, ternyata HDB mempunyai kekerabatan yang sangat dekat yang ditunjukkan oleh *comigration* profil DNA dari produk LM-PCR dari haplotipe-IS1113 A.001 asal Indonesia dan asal Filipina. Hal ini diperkirakan sangat erat kaitannya dengan luasnya areal penanaman IR64 (Nelson *et al.*, 1996)

PERBAIKAN VARIETAS PADI TERHADAP HDB DI INDONESIA

Guna mengetahui efektivitas gen padi tahan *X.o. oryzae* untuk menanggulangi penyakit HDB di Indonesia, dilakukan uji ketahanan beberapa galur isogenik IRRI (*near isogenic lines* = NILs) yang mengandung gen tahan HDB yang berbeda-beda (Bustamam *et al.*, laporan intern ARBN 1995). Dari 10 galur isogenik yang diuji,

ternyata IRBB dengan *xa-5* (IRBB5), *Xa-7* (IRBB7), dan *Xa-21* (IRBB21) cukup efektif untuk menanggulangi serangan HDB Indonesia. Gen *Xa-21* yang berasal dari padi liar *Oryza longistaminata* yang dipindahkan ke *Oryza sativa* (Robeniol *et al.*, 1996) bereaksi sangat tahan terhadap berbagai isolat *Xoo* asal India dan Filipina (Ikeda *et al.*, 1990) dan Nepal (Adhikari *et al.*, 1996). Setelah diuji lebih lanjut dengan menggunakan lebih banyak isolat *Xoo* yang berasal dari berbagai lokasi di Indonesia, ternyata ketahanan gen *Xa-21* terhadap *Xoo* di Indonesia tidak selalu baik. Bahkan untuk beberapa isolat terlihat bahwa IRBB21 (dengan gen *Xa-21*) lebih rentan terhadap HDB dari pada Cisadane (Kadir, laporan intern ARBN 1995).

Berdasarkan data tersebut, maka dalam program perbaikan ketahanan IR64 terhadap penyakit hawar daun bakteri, kini sedang dilakukan silang balik antara IR64//IRBB5 dan IR64//IRBB7. Untuk seleksi turunan IR64//IRBB5 digunakan marka DNA yang terkait dengan gen *xa-5* baik dengan RFLP atau dengan amplifikasi DNA tanaman dengan marka STS atau *sequence tag site* (Robeniol *et al.*, 1996), dan sebagai konfirmasi analisis segregasi dengan marka DNA dilakukan pula inokulasi tanaman dengan isolat tertentu dari HDB. Berhubung marka DNA yang terpaut dengan gen *Xa-7* belum diketahui, maka analisis segregasi IR64//IRBB7 dilakukan secara konvensional saja, yaitu dengan menginokulasikan isolat HDB tertentu pada tanaman dewasa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhikari, T., R.J. Nelson, T.W. Mew, and J.E. Leach. 1996. Assessment of genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* in Nepal. In G.S. Khush (Ed.). Rice Genetic III, IRRI, Los Banos, Filipina. pp. 945-949.
- Ahn, S.W. and M. Amir 1985. Rice blast management under upland condition. International Upland Rice Conference, Jakarta, March 4th-8th, 32 pp.
- Amir, M. 1995. Pengendalian penyakit blas (*Pyricularia grisea* Cav.) pada lahan kering. Dalam Almanak Nuklir Biologi dan Kimia 1984/1995. Pusat Nuklir Biologi dan Kimia Angkatan Darat. hal. 273-291.
- Alvarez, A.M., P.S. Teng, and A.A. Benedict. 1989. Method for epidemiological research on bacterial blight of rice. In Bacterial Blight of Rice, IRRI PO. Box 933 Manila, Philippines. pp. 99-110.
- Ardales, E.Y., C.M.V. Cruz, T.W. Mew, and R.J. Nelson. 1996. Hierarchical analysis of apatial variation of the rice bacterial blight pathogen across agroecosystems in the Philippines. Phytopathology. 86: 241-252.
- Burr, B., S.V. Evola, F.A.Q. Burr, and J.S. Beckman. 1983. The application of restriction fragment length polymorphism to plant breeding. Genetic Engineering Principle and Method. 6: 45-59.

- Direktorat Bina Perlindungan Tanaman Pangan. 1992.** Evaluasi serangan organisme pengganggu utama padi selama 5 tahun (1986-1990) berdasarkan laporan pengamat hama. Ditjen Pertanian Tanaman Pangan Jakarta. 84 hal.
- George, M.L.C., W.T. Cruz, and R.J. Nelson. 1994.** DNA fingerprinting of *X. oryzae* pv. *oryzae* by ligation-mediated polymerase chain reaction. IRRN 19: 29-30.
- George, M.L.C., J.E. Leach, and R.J. Nelson. 1995.** DNA fingerprinting of *X. oryzae* pv. *oryzae* using *IS1112*-based polymerase chain reaction. IRRN 20: 30-31.
- Hifni, H.R. 1986.** Kelompok bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* berdasarkan patogenesitasnya pada varietas padi. Penelitian Pertanian 6 (2): 74-76.
- Hifni, H.R. dan S. Miharja. 1994.** Studi penggeseran strain bakteri *X. campestris* pv. *oryzae* penyebab penyakit hawar daun bakteri. (Laporan Intern:1994)
- Hopkins, C.M., F.F. White, S.H. Choi, A. Guo, and J.E. Leach. 1992.** Identification of a family of avirulence genes from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Mol. Plant-Microbe Interact. 16: 451-459.
- Horino, O. and H.R. Hifni. 1978.** Resistance of some rice arieties to bacterial leaf blight and a new pathogenic group of the cansal bacterium, *Xanthomonas oryzae*. Contr. Centr. Res. Inst. Agric. Bogor. No. 14: 1-17.
- Iked, R., G.S. Khush, and R.E. Tabien. 1990.** A new resistance gene to bacterial blight derived from *O. longistaminata*, Jpn J breed 40 [Suppl 1]: 280-281.
- Kardin, M.K. dan H.R. Hifni. 1992.** Masalah penyakit hawar daun bakteri padi di Indonesia. Seminar Puslitbangtan, Bogor 12 September 1992
- Leach, J.E. and F.F. White. 1990.** Molecular probes for disease diagnosis and monitoring. In Khush, G.S. and G. H. Toennissen (Eds.). Rice Biotechnology CAB International, U.K. pp. 281-307.
- Leach, J.E., M.L. Rhoads, C.M.V. Cruz, F.F. Whirte, T.W. Mew, and H. Leung. 1992.** Assessment of genetic diversity and population structure of *X. oryzae* pv. *oryzae* with a repetitive DNA element. Appl. Environ. Microbiol. 58: 2188-2195.
- Leung, H., R.J. Nelson, and J.E. Leach. 1993.** Population structure of plan pathogenic fungi and bacteria. Adv. Plant Pathol. 10: 157-205.
- Loffler, H.J.M., ThP. Straathof, J.R. Mouris, and R.P. Beayen. 1995.** Durability of resistance in lily to basal rot: evaluation of virulence and agresiveness among isolates of *Fusarium oxysparum* F. ap. Lillii. European J. of Plant Pathology 101: 261-271.
- McCouch, S., O. Panaud, X. Chen, and Y. Xu. 1996.** Development of microsatellite markers and characterisation of simple sequence length polymorphism in rice (*Oryza sativa* L.) IRRI Los Banos. In G.S. Khush (Ed.). Rice Genetics III. pp. 549-559.

- McCouch, S.R. and S.D. Tanksley. 1991.** Development and use of restriction fragment length polymorphism in rice breeding and genetics. *In* Rice Biotechnology in Agriculture IRRI. No. 6. pp. 109-133.
- Nelson, R.J., M.R. Baroidan, C.M.V. Cruz, I.V. Yap, J.E. Leach, T.W. Mew, and H. Leung. 1994.** Relationship between phylogeni and pathotype for the bacterial blight pathogen of rice. *Apl. Envi. Micobiol.* 60: 3275-3283.
- Nelson, R.J., E. Ardales, M. Baraoidan, I. Yap, M.L.C. George, D.H. Chen, M. Finckh, A. Bordeos, C.M.V. Cruz, T. Adhikari, C.C. Mundt, M. Bustamam, W. Cruz, H. Leung, N. Huang, A. Yoshimura, S. McCouch, T.W. Mew, and J.E. Leach. 1996.** Exploring the application of molecular markers for improving resistance to bacterial blight. *In* G.S. Khush (Ed.). Rice Genetics III, IRRI Los Banos. Philippines. pp. 267-276.
- Notteghem, J.L., D. Tharreau, D. Silue, and E. Roumen. 1994.** Present knowledge of rice blast resistance genetics strategies for *Magnaporthe grisea* pathogenicity and avirulence analysis. *In* Zeigler, R.S., S.A. Leong, and P.S. Teng (Eds.), Rice Blast Disease, IRRI Los Banos CAB International. pp. 155-165.
- Ou, S.H. 1985.** Rice disease. Commonwealth Mycological Institute, Kew. Surrey UK.
- Petpisit, V., G.S. Khush, and H.E. Kauffman. 1977.** Inheritance of resistance to bacterial blight in rice. *Crop Science* Vol. 17: 551-554.
- Reitsma, J. and P.S.J. Schure. 1950.** "Kressek", a bacterial disease of rice. *Contr. Gen. Agr. Res. Sta. Bogor* 117: 1-7.
- Robeniol, J.A., S.V. Constantino, A.P. Resurreccion, C.P. Villareal, B. Ghareyazie, B.R. Lu, S.K. Katiyar, C.A. Menguito, E.R. Angeles, H.Y. Fu, S. Reddy, W. Park, S.R. McCouch, G.S. Khush, and J. Bennett. 1996.** Sequence - tagged sites and low-cost DNA markers for rice. *In* G.S. Khush (Ed.), Rice genetic III halaman: 293-306 IRRI, Los Banos , Philippines. pp. 293-306.
- Ronald, P.C., B. Albano, R. Tabien, L. Abenes, K. Wu, S. McCouch, and S.D. Tanksley. 1992.** Genetic and physical analysis of the rice bacterial blight disease resistance locus, *Xa21*. *Mol. Gen. Genet.* 236: 113-120.
- Swings, J., M. Van den Mooter, L. Vauterin, B. Hoste, M. Gillis, T.W. Mew, and K. Kersters. 1990.** Reclassification of casual agents of bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of rice and pathogens of *Xanthomonas oryzae* (ex. Ishiyama, 1922) *ap. Nov., nom.* *Rev. Int. J. Sept. Bacteriol.* 40: 309-311.
- Yamamoto, T., H.R. Hifni, M. Machmud, T. Nishizawa, and D.M. Tantera. 1987.** Variation in pathogenicity of *X. oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dowse and resistance of rice varieties to plant pathogen. *Contr. Centr. Res. Inst. Agric., Bogor*, No: 28: 1-22.