

## Penyakit darah pisang: latar belakang dan analisis genom bakterium penyakit darah (BDB)

[Banana blood disease: background and analysis of genome blood disease bacterium (BDB)]

Rafidah Badrun, Norliza Tendot Abu Bakar dan Jameah Baharom

### Pengenalan

Buah pisang merupakan salah satu makanan asas di kebanyakan negara membangun dengan penghasilan tahunan melebihi 130 juta t/tahun. Menurut FAO, pisang dikategorikan sebagai tanaman makanan keempat terpenting di dunia. Di Malaysia, buah pisang adalah tanaman buah-buahan yang kedua besar ditanam meliputi kawasan seluas 26,000 hektar dengan jumlah penghasilan buah sebanyak 530,000 tan. Lima puluh peratus daripada tanaman pisang yang ditanam di negara ini ialah pisang Berangan dan pisang Cavendish manakala selebihnya adalah kultivar pisang yang lain seperti pisang Mas, Rastali, Raja, Awak, Abu, Nipah, Nangka dan Tanduk. Sebahagian besar pisang ditanam untuk memenuhi keperluan tempatan oleh pekebun kecil dan hanya 12% daripada keseluruhan pengeluaran pisang negara dieksport terutamanya ke Singapura, Brunei, Hong Kong dan negara Timur Tengah. Walau bagaimanapun, pengeluaran buah pisang di Malaysia mengalami penyusutan mendadak 3 – 4 tahun kebelakangan ini. Antara penyebabnya adalah serangan penyakit darah pisang. Penyakit ini berkait rapat dan mempunyai banyak persamaan dari segi simptom dengan penyakit Moko dan Bugtok, namun patogennya berbeza dan telah dikenal pasti sebagai bakterium penyakit darah [*Blood Disease Bacterium* (BDB)]. Patogen BDB ini wujud sepanjang tahun di dalam tanah dan boleh disebarkan melalui bahagian pokok yang terkena jangkitan, serangga, air atau tanah yang tercemar. Penyakit ini dijangka dapat merebak sehingga 25 km/tahun.

Pemahaman mengenai kevirulenan BDB penting untuk menangani masalah ini pada masa hadapan. Selain itu, kurangnya maklumat yang ada mengenai mekanisme molekul dalam interaksi hos-patogen khususnya yang berkait dengan penyakit darah pisang ini. Dengan adanya analisis dari segi bioinformatik ke atas genom BDB dapat menambah pengetahuan baru dari segi penemuan gen-gen virulen penting yang terlibat dalam kepatogenan BDB ke atas pisang dan seterusnya mekanisme serangan patogen ini. Ia juga dapat membantu penyelidik memahami lebih lanjut mengenai kekuatan dan kelemahan bakteria ini menerusi penjujukan genom BDB dan analisis bioinformatik. Selain itu, analisis

domain dan motif yang terdapat pada jujukan gen boleh memberi gambaran fungsi sesuatu gen virulen itu. Kesemua ini, secara tidak langsung dapat memberi maklumat mengenai mekanisme dan cara untuk menghalang pertumbuhan bakteria, sekali gus mengelak jangkitannya terhadap pokok pisang.

### **Bakteria penyebab penyakit darah pisang**

Penyakit darah pisang adalah disebabkan oleh serangan patogen bakterium penyakit darah. Dari segi epidemiologi dan simptom jangkitan, ia menyerupai agen penyebab penyakit Moko iaitu patogen *Ralstonia solanacearum*. Kedua-dua patogen ini berkait rapat dan berada pada kumpulan famili yang sama.

Bakteria ini berbentuk rod, gram negatif, mempunyai saiz lebih kurang  $0.5 \times 1.0 - 1.5 \mu\text{m}$  dan mempunyai flagela. Patogen ini mempunyai kadar pertumbuhan yang lambat jika dibandingkan dengan bakteria lain. Apabila dibiakkan di atas piring medium *Triphenyl Tetrazolium Chloride* (TZC), ia muncul sebagai koloni yang berwarna putih dan kemerahan di bahagian tengahnya (Gambar 1). Ia juga termasuk dalam kumpulan Phlootype 4 spesies kompleks *Ralstonia* yang meletakkannya dalam kumpulan bakteria yang berasal dari rantau Asia/Indonesia.



Gambar 1. Koloni bakteria penyebab penyakit darah (BDB) di atas piring medium TZC

Patogen ini menyerang kebanyakan varieti pisang makan goreng (*cooking banana variety*) seperti pisang Abu, Nipah, Tanduk dan Awak. Namun, kadangkala ia juga akan menyerang pisang yang dimakan terus ketika masak seperti pisang Berangan. Bakterium penyakit darah pisang pada asalnya dinamakan sebagai *Pseudomonas celebensis* oleh Gaumann pada tahun 1923. Selepas kehadiran penyakit ini di Kepulauan Jawa, siasatan selanjutnya mengenai penyakit ini menunjukkan ia sebenarnya berbeza dengan bakteria penyebab penyakit Moko iaitu *Ralstonia solanacearum*.

Pengeluaran pisang di Malaysia telah mengalami pengurangan yang signifikan akibat penyakit layu bakteria ini. Kajian terkini yang dilakukan oleh Jabatan Pertanian Negeri Johor mendapati sebanyak 60.7% daripada 3,212 hektar ladang pisang di Johor telah dijangkiti serangan patogen ini. Perkataan 'darah' yang digunakan adalah kerana adanya titisan pekat berwarna merah kecoklatan yang keluar daripada tisu vaskular bahagian batang pokok pisang yang terinfeksi apabila dipotong dan juga pada bahagian pokok yang terluka.

### **Simptom penyakit darah pisang dan insiden penyakit**

Simptom awal yang dapat dicera pada pokok pisang yang terkena infeksi penyakit darah ini adalah warna kekuningan pada daun dan pucuk yang akhirnya akan menjadi layu serta berwarna kuning yang akan menyebabkan pokok mati (Gambar 2). Buahnya pula secara luarnya tidak menunjukkan apa-apa simptom, tetapi apabila dibelah keadaan dalam buah menunjukkan warna merah kehitaman khususnya di bahagian tisu vaskular (Gambar 3). Kebanyakan buah yang terkena jangkitan masih muda dan berwarna hijau. Buah yang terinfeksi akan mereput dan mengering menjadi warna kehitaman. Selain itu jika bahagian batang pisang yang terinfeksi dipotong dan direndam di dalam air, ia akan mengeluarkan cecair putih pekat yang sebenarnya adalah cairan bakteria BDB tersebut. Ia boleh dijadikan sebagai salah satu ujian untuk mengenal pasti kehadiran patogen BDB pada pokok yang terinfeksi. Jantung pisang pada pokok pisang yang terkena jangkitan juga akan menjadi kecut dan berwarna kehitaman selepas pokok diinfeksi selama beberapa ketika (Gambar 4). Ini menunjukkan ada kemungkinan penyakit ini juga adalah disebabkan oleh bawaan serangga. Penyakit ini juga dengan mudah dapat disebarkan oleh bahagian pokok yang dijangkiti, serangga, melalui tanah ataupun air. Patogen BDB mampu



*Gambar 2. Pokok pisang yang layu dan mempunyai daun berwarna kuning di ladang yang terkena jangkitan*



*Gambar 3. Bahagian dalam buah yang dijangkiti mempunyai warna coklat kehitaman di bahagian vaskularnya*



*Gambar 4. Jantung pokok pisang yang dijangkiti mengecut dan mereput menjadi warna kehitaman*

bertahan di dalam tanah yang dicemari pokok yang terjangkit selama setahun lamanya. Sebelum ini, patogen tersebut yang dinamakan sebagai BDB A2 HR-MARDI telah dipencilkan daripada ladang pisang yang dijangkiti penyakit ini. Ladang berkenaan terletak di Padang Rengas, Kuala Kangsar, Perak iaitu di bahagian tengah negeri Perak dengan jarak 124 km dari Pulau Pinang.

Penyakit darah pisang pertama kali dikenal pasti dan dilaporkan berlaku di ladang pisang yang terletak di Johor. Ia berlaku selepas negeri itu dilanda banjir besar pada tahun 2007. Penyakit ini didapati telah merebak ke negeri-negeri berhampiran sehinggalah ke utara Semenanjung Malaysia iaitu Perak dan Pulau Pinang. Insiden ini telah menyebabkan kerugian yang besar kepada pekebun dan peladang pisang kerana tanaman pisang mereka musnah diserang patogen ini. Satu laporan juga telah dikeluarkan oleh CABI pada tahun 2013 yang menunjukkan bahawa mereka telah berjaya memencilkan bakteria BDB di ladang pisang sekitar Kuching, Sarawak. Ini membuktikan penyakit ini telah merebak sehingga ke Malaysia Timur.

Penyakit ini juga didapati telah dikesan di Batang Kali, Selangor pada tahun 2014. Ia juga pernah dikesan menyerang kebun pisang petani kecil-kecilan di bahagian lain di Selangor iaitu di Tebuk Jawa, Sabak Bernam sehingga memaksa kakitangan Jabatan Pertanian untuk turun padang. Pegawai pertanian menasihatkan para pekebun agar menghapuskan tanaman pisang mereka bagi mengelakkan penyakit ini menular dengan lebih teruk ke kawasan tanaman pisang yang lain.

Pada tahun 2015, sebanyak 153 hektar daripada 336 hektar ladang pisang di Balik Pulau, Pulau Pinang pula telah diserang dengan penyakit ini. Sebahagian kawasan yang dijangkiti ialah Permatang Pasir, Sungai Rusa, Kampung Perlis dan Teluk Kumbar. Sebanyak 90% daripada pokok pisang yang dijangkiti adalah daripada jenis pisang Awak iaitu pisang makan goreng (*cooking banana variety*). Salah satu sebab punca bakteria menjadi aktif seperti di kawasan tersebut khususnya di Kampung Perlis, Pulau Pinang adalah kerana kawasannya yang lembap dan berair. Kos untuk membersihkan kawasan yang dijangkiti pula menelan hampir RM10,000 untuk hanya kawasan insiden yang seluas 0.4 hektar.

### **Penjujukan genom bakteria penyakit darah**

Penyahkodan genom atau penjujukan DNA BDB A2 HR MARDI telah dilakukan untuk mengenali dan mengetahui maklumat di sebalik kandungan genetiknya dengan lebih mendalam mengenai patogen ini. Sebelum dihantar untuk penjujukan DNA, bakteria perlu dihidupkan di dalam kelalang kon yang mengandungi medium kultur NB (*nutrient broth*) berisi padu 50 ml (*Gambar 5*). Bakteria ditumbuhkan

semalaman di dalam mesin inkubator bergoncang pada kelajuan 200 rpm dan bersuhu 28 °C.

Setelah itu, DNA genom diekstrak dengan menggunakan kit Gen Elute™ Bacterial Genome daripada Sigma-Aldrich (*Gambar 6*). Kit ini melibatkan aliran kerja yang agak ringkas dan hanya memerlukan sekitar 45 minit untuk mendapatkan DNA genom bakteria tersebut.

Setelah DNA bakteria berjaya diekstrak, ia kemudiannya dianalisis menggunakan gel elektroforesis (1%). Sebanyak 3 µl DNA dimasukkan dengan menggunakan pipet ke dalam telaga gel elektroforesis yang telah direndam di dalam larutan 1 x TAE dan kemudian gel tersebut dibiarkan selama 40 minit di dalam mesin *powerpac* yang mempunyai voltan sebanyak 85 V. Setelah siap, gel dicerap bawah sinaran ultra lembayung (UV) untuk melihat kehadiran garisan DNA (*Gambar 7*).

Selain cerapan melalui elektroforesis, kualiti dan kuantiti DNA yang telah diekstrak juga dianalisis dengan menggunakan mesin NanoDrop ND1000. DNA perlu mempunyai ketulenian yang tinggi sebelum boleh dihantar untuk servis penjujukan genom. Ketulenian atau kualiti DNA boleh diukur melalui nisbah penyerapan panjang gelombang 260 nm dan 280 nm ( $OD_{A260/280}$ ). Nilai kualiti DNA yang bagus perlu berada dalam julat 1.8 – 2.0. Nilai ini perlu dipatuhi bagi memastikan sampel DNA yang diesktrak bebas daripada kontaminasi protein, garam dan kontaminasi yang lain.

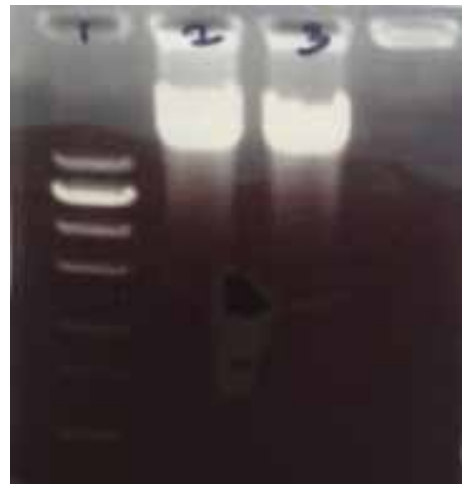
Kaedah penjujukan DNA/genom yang digunakan adalah melalui platform yang dinamakan sebagai PacBio RS II yang akan



*Gambar 5. Medium NB yang mengandungi kultur bakteria BDB*



*Gambar 6. Kit pengestrakan DNA bakteria dari Sigma-Aldrich*



*Gambar 7. Telaga 1 - penanda 1kb, Telaga 2 dan 3 - DNA genom BDB*

menghasilkan data penjujukan sebanyak 20 kb. Pengumpulan data genom dianalisis dengan menggunakan perisian yang dinamakan sebagai pengumpulan genom hierarki PacBio 2.0. Proses pengumpulan data genom ini telah berjaya menghasilkan dua kontig yang terdiri daripada satu jujukan tunggal kromosom bersaiz 3,603,619 bp dan satu jujukan tunggal megaplasmid yang bersaiz 1,486,041 bp. Kontig merupakan gabungan fragmen jujukan DNA yang bercantum dan disusun menjadi satu jujukan tunggal DNA yang panjang. Ini menjadikan jumlah keseluruhan genom bakteria BDB adalah sebanyak 5,089,660 bp dengan purata kandungan G + C nya (*guanine-cytosine*) sebanyak 66.4%.

Bukan semua bakteria mempunyai megaplasmid kerana hanya segelintir bakteria termasuk BDB memiliki jujukan dan entiti tersebut. Kebanyakan bakteria hanya mempunyai jujukan tunggal kromosom sebagai bahan utama kod genetik bakteria. Antara kelebihan yang ada pada jujukan megaplasmid ialah ia merupakan tempat terkumpulnya banyak gen-gen virulen unik yang terlibat dalam kepatogenesis terhadap tumbuhan. Selain itu, terdapat banyak juga gen yang terlibat dengan evolusi dan kemandirian bakteria pada jujukan megaplasmid tersebut.

Selain itu, analisis model gen untuk patogen BDB A2 HR-MARDI turut dilakukan dengan menggunakan perisian *ab initio* v2.60. Hasilnya sebanyak 3,276 jujukan pengekod (jujukan yang mengekodkan gen) telah dijumpai dalam kromosom. Manakala sebanyak 1,340 jujukan pengekod pula terdapat dalam megaplasmid. Jujukan pengekod ini adalah penting untuk mengetahui fungsi atau protein yang dikodkan oleh sesuatu jujukan DNA atau gen itu. Melalui analisis menggunakan perisian yang dinamakan *Island Viewer* pula, sebanyak 36 pulau genomik (*genomic island*) telah dijumpai di kromosom dan sembilan pulau genomik pula terdapat dalam jujukan megaplasmid. Pulau genomik adalah struktur unik yang terdapat pada kebanyakan patogen tumbuhan dan merupakan tempat banyak gen-gen virulen berkumpul yang boleh menyebabkan faktor kepatogenesis terhadap tumbuhan tercetis.

Analisis jarak genomik (*genomic distance*) juga dilakukan bagi mengenal pasti hubungan BDB dengan spesies bakteria lain yang berkaitan. Ia dilakukan dengan membandingkan genom BDB dengan lapan lagi genom rujukan bakteria lain yang berhampiran. Daripada analisis tersebut, didapati isolat BDB A2 HR-MARDI mempunyai kaitan yang sangat rapat dengan genom rujukan BDB R229 yang dipencilkan daripada Kepulauan Sumatera, Indonesia. Ia mempunyai persamaan sehingga lebih daripada 98% dari segi keseluruhan jujukan genomnya. Oleh itu, boleh disimpulkan bahawa isolat yang dipencilkan dari ladang pisang yang terletak di Padang Rengas, Perak ini adalah sememangnya bakterium

penyakit darah pencilan tempatan dan bukannya patogen Moko (*Ralstonia solanacearum*) seperti yang kebanyakan orang sangkakan. Malahan ia mempunyai kedudukan jarak genomik (yang agak jauh daripada *R. solanacearum* patogen penyebab penyakit Moko. BDB pencilan tempatan ini berada dalam kumpulan yang sama dengan BDB R229 dari Indonesia. Manakala patogen Moko iaitu *Ralstonia solanacearum* berada dalam kumpulan yang berbeza berdasarkan analisis penghimpunan genom (*genome assembly*) yang telah dilakukan.

Melalui analisis genom bakteria ini juga beberapa gen virulen dan yang terlibat dalam kepatogenesis BDB telah berjaya dikenal pasti melalui analisis khusus menggunakan pangkalan data *Pathogen-Host Interaction* (PHI-base). Sebanyak 17 gen telah dikenal pasti iaitu 13 gen yang terletak dalam kromosom manakala empat gen lagi telah dijumpai dalam megaplasmid. Antara gen-gen utama yang dikenal pasti ialah malat sintase, protein hfq, glutathione peroksidase, asetil-ko-A asetiltransferase, protein QseB pengawal atur transkripsi, protein kerintangan acriflavine, pektat liase dan S-adenosilmetionin sintase.

Analisis bioinformatik secara terperinci diteruskan dengan menggunakan perisian *Rapid Annotation using Subsystem Technology* (RAST). Analisis ini penting untuk menyokong data yang diperolehi sebelum ini. Daripada hasil analisis RAST, didapati genom BDB mempunyai 4,654 jujukan berkod dan 436 subsistem. Daripada jumlah tersebut sebanyak enam subsistem didapati mempunyai peranan yang signifikan dan terlibat secara langsung dalam mekanisme kevirulenan dan kepatogenesis. Subsistem tersebut adalah kapsul dan dinding sel; virulensi, penyakit dan pertahanan; faj, profaj, plasmid; motiliti dan kemotaksis; pengawalaturan isyarat sel dan tindak balas tekanan. Melalui proses perlombongan data (*data mining*), genom BDB yang intensif telah berjaya menemukan kehadiran beberapa lagi komponen faktor virulen yang penting iaitu gen efektor/hrp.

Seperti kebanyakan bakteria gram negatif lain yang bersifat patogen, BDB turut mempunyai sistem perembesan jenis III yang mampu menyuntik protein efektor bakteria ke dalam sel hos tumbuhan. Sistem perembesan ini bertindak sebagai picagari molekul kerana berupaya menyuntik dan membawa masuk protein virulen/efektor yang boleh menindas atau melawan sistem pertahanan tumbuhan untuk membolehkan patogen yang masuk ke dalam sel dapat bermandiri dan seterusnya mampu menguasai sel hos tumbuhan. Ini adalah permulaan kepada simptom penyakit tersebut yang wujud di dalam sistem hos (pokok) kerana gen efektor berupaya mempengaruhi kepatogenesis dan kevirulenan melalui interaksi dengan hos dan juga persekitarannya. Gen efektor putatif yang berjaya ditemui dalam genom BDB ini

ialah hrpB, hrpW, popB, popC, hrpA, hrpH, popA1, hrpJ, hrpX, hrpY, prhJ dan popW.

Penganalisan bioinformatik lanjutan terhadap gen efektor/virulen yang putatif dijalankan dengan menggunakan perisian SignalP, TargetP, GPI-SOM, TMHMM dan SSPred. *Jadual 1* merumuskan data yang diperolehi daripada analisis menggunakan perisian terbabit. Sebagai permulaan, jujukan DNA untuk setiap gen perlu ditukar terlebih dahulu kepada jujukan protein dengan menggunakan perisian *Transcription and Translation Tool*. Jujukan protein yang berjaya ditukar disimpan dalam bentuk fasta bagi memudahkan penganalisan seterusnya. Perisian SignalP bertujuan untuk mengesan kehadiran peptida isyarat sebagai satu petunjuk bahawa sesuatu protein itu dirembes keluar oleh patogen. Perisian ini berjaya mengesan hanya satu jujukan protein efektor BDB iaitu hrpA yang mempunyai peptida isyarat. Manakala hasil perisian TargetP menunjukkan terdapat tiga jujukan protein yang tergolong dalam kumpulan protein daripada organel mitokondria. Seterusnya, perisian TMHMM digunakan bagi meramal protein transmembran. Manakala GPI-SOM dijalankan untuk meramalkan jujukan protein yang memiliki sauh-GPI.

Hasil analisis menggunakan perisian GPI-SOM dan TMHMM menunjukkan kesemua 13 jujukan gen virulen hrp BDB tidak mempunyai sauh-GPI dan topologi jujukan protein berada di luar sel membran. Ini mengukuhkan analisis bahawa gen virulen tidak terdiri daripada protein transmembran dan sememangnya protein ini dirembes keluar daripada patogen serta terlibat dalam interaksi antara hos dan patogen. Jujukan gen virulen HrpA, PopC dan PrhJ yang dikesan terdiri daripada protein mitokondria. Berkemungkinan jujukan gen

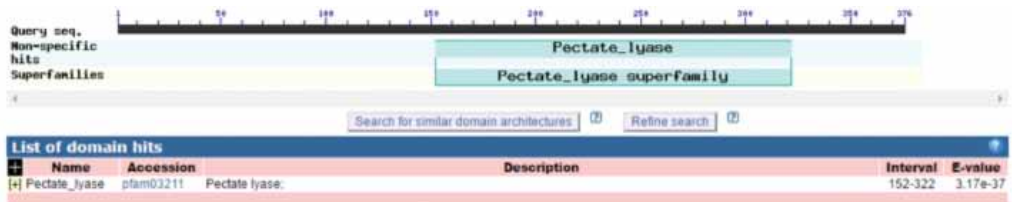
Jadual 1. Rumusan analisis peramalan jujukan gen virulen BDB

Nama protein	SignalP	TargetP	SSPred
HrpA	Ada	M	Ada
HrpB	Tiada	-	Tiada
HrpH	Tiada	-	Ada
HrpJ	Tiada	-	Ada
HrpW	Tiada	-	Ada
HrpX	Tiada	-	Ada
HrpY	Tiada	-	Ada
PopB	Tiada	-	Ada
PopC	Tiada	M	Ada
PopA1	Tiada	-	Tiada
PrhJ	Tiada	M	Tiada
PopW	Tiada	-	Ada
GALA3	Tiada	-	Ada



virulen ini terdiri daripada protein mitokondria dan pada masa yang sama dirembes keluar daripada organel dan turut terlibat dalam interaksi hos dan patogen.

Perisian *Batch-CD Search* pula digunakan bagi mengenal pasti domain dalam jujukan protein virulen BDB dan boleh memaparkan id jujukan, jenis hit, nilai E, nama dan lokasi domain. Fail jujukan protein dalam format fasta digunakan sebagai input. Nama dan lokasi domain yang dipaparkan memudahkan analisis domain bagi mencirikan jujukan BDB. Hasil analisis domain dan motif menunjukkan *hrpB* dan *prhJ* berkongsi domain yang sama iaitu *Helix Turn Helix* (HTH). Domain HTH merupakan salah satu domain yang terlibat dalam pengikatan DNA dan dikenal pasti terlibat dalam proses pengawalaturan perkembangan sesuatu sel. Selain itu, domain *Leucine Rich Repeat* (LRR) turut dikesan. Protein domain LRR terlibat dalam interaksi dengan protein-ligan dan juga interaksi antara protein-protein lain. Perbandingan antara perisian dan pangkalan data dilakukan bagi mengenal pasti motif dalam jujukan gen virulen. Antara perisian yang digunakan untuk analisis motif ialah SMART dan MotifFinder. Hasil analisis motif dan domain menunjukkan terdapat pectate lyase pada protein jujukan *popW* (*Gambar 8*). *Pectate lyase* merupakan enzim yang dirembes keluar oleh patogen dan terlibat dalam merencatkan tisu pada tumbuhan.



*Gambar 8. Rajah kedudukan domain bagi jujukan PopW*

### Kesimpulan

Hasil analisis genom BDB A2 HR-MARDI dapat memberi satu dimensi baru dalam meneroka lebih banyak lagi faktor virulen/efektor yang penting dan berpotensi. Data bioinformatik yang dikumpul dapat membantu dalam pemahaman secara terperinci terhadap mekanisme molekul BDB yang berlaku ketika penginfeksian terhadap pokok pisang dan juga dari segi epidemiologi bakteria tersebut. Hasil kajian ini telah memberi maklumat penting dalam pembangunan strategi yang berkesan untuk menangani penyakit ini. Kini, genom BDB A2 HR-MARDI telah berjaya dimasukkan ke dalam pangkalan data awam NCBI secara rasminya bawah no akses CP019911 untuk kromosom dan CP019912 bagi megaplasmid.

## Penghargaan

Pengarang mengucapkan terima kasih kepada Dr. Rozeita Laboh, Pn. Nur Sulastri Jaffar dan Cik Noor Asdayanti Abu Bakar yang turut membantu semasa kajian ini dijalankan.

## Bibliografi

- Afroz, A., Zahur, M., Zeeshan, N. dan Komatsu, S. (2013). Plant bacterium interactions analyzed by proteomics. *Frontiers in Plant Science* 4 (21): 1 – 18
- Alfano, J.R. dan Collmer, A. (1997). The type III (Hrp) secretion pathway of plant pathogenic bacteria: trafficking harpins, Avr proteins and death. *J Bacteriol* 179: 5655 – 5662
- Block, A., Li, G., Fu, Z.Q. dan Alfano, J.R. (2008). Phytopathogen type III effector weaponry and their plant targets. *Curr. Opin. Plant Biol.* 11: 396 – 403
- Cornelis, G.R. dan Van Gijsegem, F. (2000). Assembly and function of type III secretory systems. *Annu Rev Microbiol* 54: 735 – 774
- Cunnac, S., Lindeberg, M. dan Collmer, A. (2009). Pseudomonas syringae type III secretion system effectors: repertoires in search of functions. *Curr. Opin. Microbiol.* 12: 53 – 60
- Eden-Green, S.J. dan Sastraatmadja (1990). Blood disease present in Java. *FAO Plant Protection Bulletin* 38: 49 – 50
- Ellis, J.G., Rafiqi, M., Gan, P., Chakrabarti, A. dan Dodds, P.N. (2009). Recent progress in discovery and functional analysis of effector proteins of fungal and oomycete plant pathogens. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12: 399 – 405
- Gohre, V. dan Robatzek, S. (2008). Breaking the barriers: microbial effector molecules subvert plant immunity. *Annu Rev Phytopathol* 46: 189 – 215
- Gophna, U., Ron, E.Z. dan Graur, D. (2003). Bacterial type III secretion systems are ancient and evolved by multiple horizontal transfer events. *Gene* 312: 151 – 163
- He, S.Y., Nomura, K. dan Whittam, T.S. (2004). Type III protein secretion mechanism in mammalian and plant pathogen. *Biochem. Biophys. Acta* 1694: 181 – 206
- Hogenhout, S.A., Van der Hoorn, Terauchi, R. dan Kamoun, S. (2009). Emerging concepts in effector biology of plant-associated organisms. *Mol Plant Microbe Interact* 22: 115 – 122
- Kamoun, S. (2007). Groovy times: Filamentous pathogen effectors revealed. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10: 358 – 365
- Thwaites, R., Eden-Green, S.J. dan Black, R. (2000). Diseases caused by bacteria. Dalam: *Diseases of Banana*, m.s. 213 – 239. Wallingford: CABI Publishing
- Wroblewski, T., Caldwell, K.S., Piskurewicz, U., Cavanaugh, K.A., Xu, H., Kozik, A., Ochoa, O., McHale, L.K., Lahre, K., Jelenska, J., Castillo, J.A., Blumenthal, D., Vinatzer, B.A., Greenberg, J.T. dan Michaelmore, R.W. (2009). Comparative large-scale analysis of interactions between several crop species and the effector repertoires from multiple pathovars of Pseudomonas and Ralstonia. *Plant Physiology* 150: 1733 – 1749

## Ringkasan

Pisang merupakan antara enam buah-buahan utama dalam Projek 'Entry Point' NKEA untuk program penghasilan buah-buahan. Antara masalah utama tanaman pisang di Malaysia adalah penyakit layu bakteria atau kini dikenali sebagai

penyakit darah pisang yang disebabkan oleh bakteria yang dikenali sebagai bakterium penyakit darah atau *blood disease bacterium* (BDB). Simptom penyakit darah ini ialah daun yang layu, tisu vaskular dan bahagian dalam buah menjadi kehitaman dan akhirnya akan mereput. Sehingga kini, masih tiada lagi pokok pisang yang didapati tahan terhadap penyakit ini. Malah epidemiologi patogen unik ini masih banyak yang tidak diketahui dan perlu dipelajari dengan lebih mendalam. Kapatogenan BDB bergantung kepada tindak balas gen hipersensitiviti dan kepatogenan (*hrp*) yang dikenali sebagai gen efektor. Penyelidikan berterusan patogen bakteria BDB perlu diteruskan untuk memanfaatkan sepenuhnya genom BDB. Ini membolehkan kajian untuk lebih memahami kevirulenan dan kepatogenan bakteria BDB. Maklumat dan pengetahuan yang dikumpul dapat membantu dalam menyediakan pelan strategik dan pendekatan integrasi untuk mengatasi penyakit darah pisang dan membantu dalam membangunkan varieti pisang yang tahan rintang terhadap penyakit ini.

### **Summary**

Banana is listed among six fruits crop under the Entry Point Project of the National Key Economic Area (NKEA) for fruit production. One of the major banana disease problems faced in Malaysia is bacteria wilt disease or known as banana blood disease. It was caused by bacteria recently named as blood disease bacterium (BDB). The disease symptoms including wilting of leaves, discolored vascular tissues, fruits and eventually all become rot. To date there is still no commercial banana plant claimed to be resistant and epidemiology of the pathogen is also not well understand. The pathogenicity of BDB depends on hypersensitive response and pathogenicity (*hrp*) genes known as effector. A continuous research should be carried out to fully utilize the genome data for study and understanding virulency and pathogenicity of the BDB pathogen. The information obtained may provide a strategic plan and integrated approach to overcome this disease and towards the development of banana variety that is resistant to the disease.

### **Pengarang**

Rafidah Badrun

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi,  
Ibu Pejabat MARDI, Serdang, Persiaran MARDI-UPM,  
43400 Serdang Selangor

E-mel: rafidah@mardi.gov.my

Norliza Tendot Abu Bakar dan Jameah Baharom  
Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi,  
Ibu Pejabat MARDI, Serdang, Persiaran MARDI-UPM,  
43400 Serdang Selangor