

Penyaringan tahap toleransi janaplasma pisang terhadap *Ralstonia syzygii* **(Germplasm screening of *Musa* spp. for tolerance against *Ralstonia syzygii*)**

Sivanaswari Chalaparmai, Nur Sulastri Jaffar, Salehudin Md Radzuan, Wan Mahfuzah, Wan Ibrahim, Adnan Ambiah, Ismail K, dan Nurul Enanee Abdul Kadir

Pengenalan

Pisang (*Musa* spp.) merupakan buah yang sangat popular dan menjadi kegemaran ramai. Pisang juga salah satu buah utama dalam diet pemakanan penting di tropika dan subtropika. Pisang merupakan tanaman eksport atau perdagangan yang berharga di banyak negara membangun yang menyumbang USD45 – 5 bilion setahun. Sektor pertanian di Malaysia kekal sebagai sektor penting dalam ekonomi kerana pada masa ini menyumbang 7.1% kepada pertumbuhan produk domestik (KDNK) dan memberikan 10.2% daripada jumlah pekerjaan di Malaysia. Salah satu buah yang paling popular dan komersial yang telah disumbangkan kepada sektor pertanian Malaysia ialah pisang (*Musa* spp.). Pisang juga merupakan buah-buahan yang kedua terbesar keluasan tanaman selepas durian dan disenaraikan di tempat ketiga untuk nilai pengeluaran buah eksport tertinggi dan dimakan (9.5 kg/tahun).

Keluasan penanaman pisang semakin menurun sejak kebelakangan ini walaupun permintaan terhadap buah ini semakin meningkat. Salah satu sebabnya adalah serangan penyakit yang menyerang varieti-varieti pisang yang komersial. Antara penyakit yang amat serius adalah penyakit darah pisang atau dikenali sebagai *Banana Blood Disease* (BBD) yang disebabkan oleh patogen *Ralstonia syzygii*. Patogen ini adalah bakteria bawaan tanah (*soil borne*) yang memasuki akar tanaman, menyerang xilem dan menyebarkan dengan cepat ke bahagian rongga tumbuhan melalui sistem vaskular membawa kepada gejala layu dan akhirnya kematian tumbuhan dalam masa yang begitu singkat.

Patogen berkembang pesat dalam sistem tanaman kerana beberapa tekanan selektif, tetapi kebanyakan varieti pisang di dalam janaplasma mempunyai ketahanan genetik terhadap kebanyakan patogen. Pencarian kultivar pisang toleran dan rintang penyakit dijangka akan menjadi penyelesaian jangka panjang dan juga menjimatkan kos pengeluaran. Objektif kajian ini adalah untuk menilai kultivar pisang yang berada di Janaplasma Pisang MARDI, MARDI Sintok, Kedah bagi mengetahui tahap ketahanan terhadap penyakit darah pisang yang disebabkan oleh *R. syzygii*.

Bahan dan kaedah

Bahan tanaman

Sebanyak 128 aksesori pisang daripada koleksi tempatan, negara jiran dan pusat pembaikbakaan antarabangsa digunakan untuk eksperimen ini. Aksesori-aksesori ini merangkumi jenis pisang makan segar, pisang untuk masakan, pisang hiasan, pisang hibrid dan juga jenis liar. Aksesori-aksesori ini ditanam dalam reka bentuk blok secara rawak (RCBD) dengan replikasi sebanyak lima pokok bagi setiap aksesori. Pengairan diberikan melalui sistem pengairan titisan.

Pengesahan patogen di *hotspot*

Pengesahan patogen penyebab penyakit darah pisang (BBD) adalah secara molekular dengan pengambilan sampel penyakit secara rawak. Bakteria patogen dipencilkan daripada tisu dan tanah tanaman pisang yang dijangkiti BBD yang diperoleh dari plot kajian *hotspot* penyakit pisang di MARDI Sintok. Pemencilan bakteria patogen dilaksanakan melalui protokol standard mikrobiologi menggunakan 1 g sampel tisu simptomatik pisang dan 10 gram sampel tanah pada *Selective Medium South Africa* (SMSA). Pencairan bersiri 10^{-1} sehingga 10^{-7} dilaksanakan bagi kiraan mikrob selepas inkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Pengecaman koloni *R. syzygii* berdasarkan koloni putih dengan pigmentasi merah di bahagian tengah. Koloni isolat kemudiannya diasingkan dan dituliskan pada medium *triphenyl tetrazolium chloride* (TZC) bagi analisis seterusnya. Pencirian molekular menggunakan primer 759 dan 760 telah menyokong bahawa bakteria yang diperoleh adalah bakteria penyakit darah pisang *R. syzygii*. Anggaran sebanyak 282-bp primer telah diperolehi bagi isolat yang diuji. Laporan sebelum ini menunjukkan bahawa primer 759 dan 760 dapat mengamplifikasi fragmen 282-bp daripada strain DNA *R. syzygii* yang menyebabkan penyakit darah pisang dan juga daripada bakteria-bakteria lain berkait rapat iaitu strain *R. solanacearum* dan *P. syzygii*. Analisis molekular ini mengesahkan bahawa terdapat patogen penyakit darah pisang (BBD) iaitu *R. syzygii* pada plot *hotspot* yang disiasat.

Koleksi data

Pemerhatian dan koleksi data diambil selama dua kitaran tanaman pisang iaitu selama dua tahun. Penilaian insiden [*Disease incidence* (DI)] dan keterukan [*Disease severity* (DS)] penyakit di lapangan dilakukan bagi setiap 30 hari selama tempoh tersebut dan gejala diperhatikan. Nilai insiden penyakit (DI) direkod berdasarkan pengamatan kehadiran simptom pada pokok secara rawak dan dihitung berdasarkan formula oleh Cooke, 2006.

$$DI (\%) = [\text{Pokok berpenyakit} / (\text{Jumlah pokok yang dinilai})] \times 100$$

Nilai keterukan penyakit (DS) pula direkod berdasarkan skala daripada 0 – 5, di mana 0 menunjukkan gejala sihat dan 5 menunjukkan gejala layu yang teruk dan dihitung menggunakan formula Horsfall dan Barrat, 1945 seperti yang berikut:

$$DS (\%) = \frac{\sum (a \times b)}{N.Z} \times 100$$

$\sum (a \times b)$ = Jumlah antara pokok simptomatik dan skala keterukan

N = Jumlah pokok yang dinilai

Z = Skala keterukan yang tertinggi

Keputusan dan perbincangan

Sebanyak 128 aksesori pisang daripada genom yang berbeza telah dinilai kerintangannya terhadap BBD (*Jadual 1*). Dalam pemerhatian dan penilaian di ladang *hotspot*, 10 aksesori didapati sangat toleran (HT) terhadap patogen BBD iaitu *Ralstonia syzygii*; ini termasuk Pisang Masam, THU GIA KUL 609, Jari Buaya, Jari Buaya IMTP3, Putar, CV Rose, GCTGV-215, Pisang Hijau, FHIA 01, Balbisiana KUL dan Peninjau. Didapati juga 13 aksesori yang toleran terhadap *Ralstonia syzygii* iaitu BURO-CEMSA, Lilin Malaysia, KRA 7730, KRA 7732, FHIA 17, Berlin IMTP3, Sarawak Lain, Kapal Bentong, Pindek, Ceylan IMTP3, Pisang keladi, Pisang Serindik, KRA 7732 dan BDI UM Liar. Sejumlah 105 aksesori lain rentan kepada *Ralstonia syzygii* (*Jadual 2*). Aksesori-aksesori pisang yang rentan dan rintang adalah daripada pelbagai jenis varieti iaitu daripada kultivar varieti asli, liar, luar negara dan hibrid yang telah ditambah baik.

Penemuan kajian oleh Baharuddin (1994) mendakwa bahawa tiada satu pun daripada pelbagai kultivar *Musa* termasuk kultivar AAA komersial, pisang (AAB) dan *Musa* liar yang tahan terhadap BBD melalui kajian inokulasi batang yang telah dilaksanakan oleh beliau. Selain itu, penemuan tersebut juga seiring dengan

Jadual 1. Taburan tahap ketahanan terhadap penyakit BBD pada setiap jenis genom pisang di ladang *hotspot*

Genom	Aksesori diuji			
	Jumlah	Sangat toleran (0 <ID <40)	Toleran (40 <ID <60)	Rentan (60 <ID <100)
AA	54	5	6	43
BB	1	0	0	1
AAA	27	2	0	25
AAB	7	0	1	6
ABB	6	0	1	5
BBB	4	1	0	3
AAAA	4	0	1	3
AAAB	7	1	0	6
Lain-lain	17	1	4	12

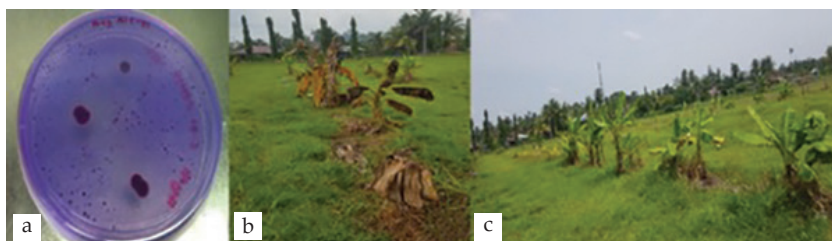
Jadual 2. Akses-aksesi pisang yang dikategorikan sangat toleran dan toleran terhadap *Ralstonia syzygii* di dalam koleksi janaplasma pisang MARDI

Bil.	Akses	Genom	Jenis	DI (%)
Akses pisang yang sangat toleran				
1	CV Rose	AA	Varieti asli	0
2	Balbisiana KUL	BBB	Varieti asli	10.52
3	GCTGV-215	AAA	hibrid	11.78
4	FHIA 01	AAAB	hibrid	13.54
5	Pisang hijau	AAA AA	Varieti asli	18.46
6	Peninjau	Tidak diketahui	Varieti asli	25
7	Pisang masam	AA	Varieti asli	25.75
8	Jari Buaya IMTP3	AA	hibrid	27.53
9	THU GIA KUL 609	AA	Varieti asli	28.15
10	Putar	AA		38.4
Akses pisang yang toleran				
11	Ceylan IMTP3	AAB	hibrid	41.55
12	Berlin IMTP3	AA	hibrid	42.67
13	Lilin Malaysia	AA	Varieti asli	43.45
14	FHIA 17	AAAA	hibrid	45.39
15	BDI UM wild	Unknown	Liar	48.97
16	BURO-CEMSA	ABB	Varieti asli	49.86
17	KRA 7730	AA	Liar	51.23
18	Pindek	Unknown	Varieti asli	52.44
19	Pisang Serindik	AA	Varieti asli	52.5
20	Other Sarawak	Unknown	Varieti asli	52.76
21	Pisang keladi	AA	Varieti asli	55.6
22	KRA 7732	AA	Liar	56.73
23	Kapal Bentong	Unknown	Varieti asli	58.82

Jadual 3. Skala keterukan bagi penyakit darah pisang, BBD

Simptom	Skor
Tiada simptom/pokok sihat	0
Daun layu	1
Daun kuning dan layu	2
2 – 3 daun nekrotik	3
Lebih daripada 4 daun nekrotik	4
Pokok mati	5

penemuan kajian oleh Gaumann (1921) yang tidak menemui rintangan dalam 100 kultivar yang diuji terhadap patogen BBD. Namun begitu, berbeza dengan penemuan kajian semasa ini di mana dalam situasi pengujian di lapangan secara *hotspot*, terdapat perbezaan yang signifikan dalam kerentanan antara varieti pisang.



Gambar 1. (a) Isolat bakteria *Ralstonia solanaceae* pada medium SMSA; morfologi isolat menunjukkan koloni berwarna putih dengan pigmentasi merah di tengahnya (b) Aksesori rentan Pisang Raja di ladang hotspot (c) Aksesori pisang sangat rintang Pisang CV Rose di ladang hotspot

Kesimpulan

Sebilangan besar kultivar komersial adalah rentan kepada penyakit darah pisang (BBD). Sebanyak 14 aksesori pisang varieti asli, tiga jenis pisang liar dan enam pisang hibrid yang dikenal pasti toleran. CV Rose merupakan aksesori pisang yang sangat toleran kerana tiada DI direkodkan sepanjang pemerhatian dijalankan. Gen aksesori toleran ini boleh digunakan dalam penambahbaikan hibrid pisang yang rintang terhadap penyakit bakteria ini. Para penyelidik juga boleh menggunakan data daripada kajian ini untuk menjalankan kajian yang lebih mendalam.

Bibliografi

- Baharuddin, B. (1994). *Pathological, Biochemical and Serological Characterization of the Blood Disease Bacterium Affecting Banana and Plantain (Musa spp.) in Indonesia*. Göttingen: Cuvillier Verlag
- Bakar, A.H., Badrun, R., Ahmad, K. dan Bakar, N.T. (2018). Symptomatology and Range of the Blood Disease Bacterium A2 HR MARDI Strain (*Ralstonia solanaceae* subsp. *celebensis*) on Selected Hosts. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*, 11 (9). 71 – 77. ISSN 2319-2372; ESSN: 2319 – 2380
- Cooke, B.M. (2006). Diseases assessment and yield loss. In: *The Epidemiology of Plant Diseases*, (Cooke, B.M., Jones, D.G. dan Kaye, B., eds.), p. 43-80. The Netherlands: Springer
- Fatimah Kayat dan N.H. Baruddin.(2001). *Musa gracilis*, A Potential Source for Banana Breeding
Abstract presented at Malaysian National Banana Congress 2021.
- Gaumann EA. (1921). Investigations on the blood disease of bananas in Celebes I. *Meded. Institute Plantenziekten*, 50
- Genin, S. (2010). Molecular traits controlling host range and adaptation to plants in *Ralstonia solanaceae*. *New Phytol.* 187: 920 – 928

- Harper, G. dan Hull, R. (1999). Cloning and sequence analysis of banana streak virus DNA. *Virus Genes* 17: 271 – 278
- Horsfall, J.G. dan Barrat, R.W. (1945). An improved grading system for measuring plant disease. *Phytopathology* 35: 655
- Jooste, A.E.C., Wessels, N. dan van der Merwe, M. (2016). First report of banana bunchy top virus in banana (*Musa* spp.) from South Africa. *Plant Disease* 100(6): 1,251
- Rozeita Laboh, Nur Sulastri Jaffar, Azlan Azizi Muhamad Nor, Suhanna Ahmad, Sivanaswari Chalaparmal dan Johari Sarip (2001). The R&D Status of Biological Approaches in Managing the Major Diseases of Banana. Abstract presented at Malaysian National Banana Congress 2021
- Villa, J., Tsuchiya, K., Horita, M., Natural, M., Opina, N. dan Hyakumachi, M. (2003). DNA analysis of *Ralstonia solanacearum* and related bacteria based on 282-bp PCR amplified fragment. *Plant Disease* 87(11): 1,337 – 1,343

Ringkasan

Pisang (*Musa* sp.) adalah salah satu komoditi buah yang sangat penting di Malaysia. Mata pencarian kebanyakan petani di Malaysia terancam disebabkan oleh penyakit pisang yang teruk. Penyakit darah pisang yang disebabkan oleh *Ralstonia syzygii* adalah salah satu penyakit bakteria yang paling penting, meluas dan boleh merundumkan industri tanaman pisang. Sehingga kini, tidak ada pilihan kawalan kimia yang berkesan untuk penyakit ini. Keperluan untuk mencari varieti toleran dan rintang penyakit sangat penting untuk menggantikan kultivar komersial yang rentan dan juga untuk tujuan pembaikbakaan selanjutnya. Justeru, satu kajian bagi menentukan aksesori pisang yang toleran telah dijalankan. Sebanyak 128 aksesori pisang di dalam koleksi janaplasma pisang MARDI diuji dengan *Ralstonia syzygii* di plot *hotspot* MARDI Sintok. Kajian ini dijalankan di dalam reka bentuk secara rawak dengan lima replikasi untuk setiap aksesori pisang. Pemerhatian dibuat selama dua musim kitaran penanaman pada tahun 2017 dan 2018. Sebanyak 10 aksesori dikenal pasti sangat toleran terhadap *Ralstonia syzygii* termasuk Pisang Masam, THU GIA KUL 609, Jari Buaya IMTP3, Putar, CV Rose, GCTGV-215, Pisang Hijau, FHIA 01, Balbisiana KUL dan Peninjau. Manakala, terdapat 13 aksesori yang toleran terhadap *Ralstonia syzygii* iaitu BURO-CEMSA, Lilin Malaysia, KRA 7730, KRA 7732, FHIA 17, Berlin IMTP3, Oter Sarawak, Kapal Bentong, Pindek, Ceylan IMTP3, Pisang Keladi, Pisang Serindik dan BDI UM wild. Sejumlah 105 aksesori pisang yang lain adalah rentan (ID >70/*died*) terhadap *Ralstonia syzygii*. Hasil kajian memberikan maklumat penting mengenai ketahanan sumber genetik pisang terhadap penyakit layu bakteria untuk pemuliharaan dan pembangunan industri pisang di Malaysia.

Summary

The livelihoods of many Malaysian farmers have been threatened by devastating banana diseases. Bacterial wilt caused by *Ralstonia syzygii* is one the most important, widespread and lethal bacterial diseases of banana plant. Identification of *Ralstonia syzygii* in Malaysia and neighbouring countries has aroused widespread concern because it may lead to severe destruction of banana industry. Till date, there is no effective chemical control options exist for this disease control. The need to find tolerant and resistant varieties is very important to replace susceptible commercial cultivars and also for further breeding purposes. To identify a tolerant or resistant germplasm, 128 accessions were evaluated for *Ralstonia syzygii* at MARDI Sintok hotspot field. Observations were made for two cycles. In total, 10 accessions were highly tolerant (HT) to *Ralstonia syzygii*; these include Pisang Masam, THU GIA KUL 609, Jari Buaya, Jari Buaya IMTP3, Putar, CV Rose, GCTGV-215, Pisang Hijau, FHIA 01, Balbisiana KUL and Peninjau. There were thirteen accessions tolerant to *Ralstonia syzygii* namely BURO-CEMSA, Lilin Malaysia, KRA 7730, KRA 7732, FHIA 17, Berlin IMTP3, Other Sarawak, Kapal Bentong, Pindek, Ceylan IMTP3, Pisang keladi, Pisang Serindik, KRA 7732 and BDI UM Wild. The other accessions are susceptible to *Ralstonia syzygii*. The 23 tolerant accessions were then inoculated with *Ralstonia syzygii* under control environment. Seven accessions were finally found resistant to Banana Bacterial Disease. They were Berlin IMTP3, Pisang Masam, Pisang Kapal Bentong, Pisang Oter Sarawak, KRA 7730, KRA 7732 and BDI UM Wild. Four of these accessions have good and acceptable eating quality while the other three are wild.

Pengarang

Sivanaswari Chalaparma
Pusat Penyelidikan Hortikultur
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM
43400 Serdang, Selangor
E-mel: sivanaswari@mardi.gov.my

Nur Sulastri Jaffar, Ismail K dan Nurul Enanee Abdul Kadir
Pusat Penyelidikan Hortikultur
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM
43400 Serdang, Selangor

Sallehudin Md Radzuan, Wan Mahfuzah Wan Ibrahim dan Adnan Ambiah
Pusat Penyelidikan Hortikultur, MARDI Sintok
06050 Bukit Kayu Hitam, Kedah

