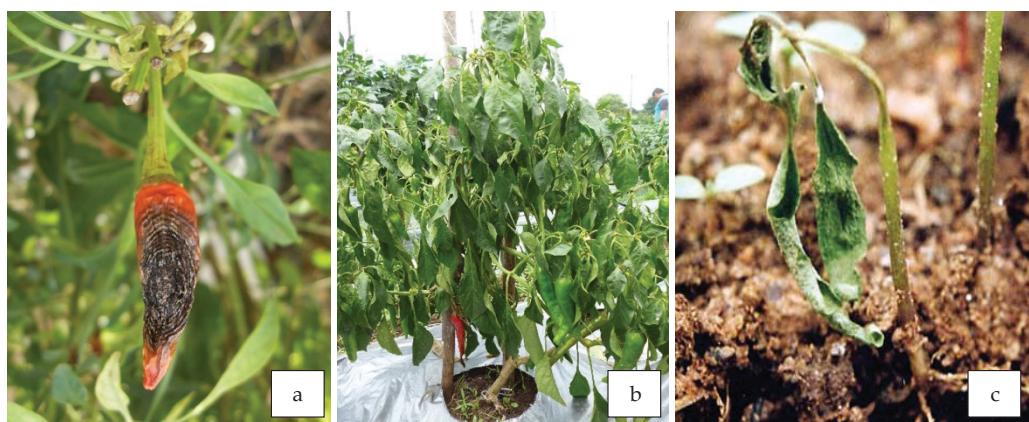


Potensi *Trichoderma asperellum* sebagai agen kawalan biologi untuk penyakit tanaman cili (Potential of *Trichoderma asperellum* as a biological control agent for chilli plant diseases)

Nur Liyana Iskandar, Zurin Aida Jamilan dan Nurul Huda Badarunzaman

Pengenalan

Cili atau nama saintifiknya *Capsicum annum* adalah tanaman sayuran yang popular di Malaysia. Sebagai negara yang mempunyai kepelbagaiian makanan dan bangsa, cili merupakan perasa utama dalam kalangan rakyat negara ini. Jabatan Pertanian Malaysia telah melaporkan pengeluaran cili di Malaysia adalah berkeluasan 2,664 hektar dengan pengeluaran hasil sebanyak 26,354 tan setahun pada tahun 2019. Masalah penyakit dan perosak merupakan antara risiko yang dihadapi oleh petani dalam penanaman dan pengeluaran hasil cili. Penyakit utama yang sering menyerang tanaman cili adalah penyakit bintik berpusar antraknos, lekur anak benih *Pythium* (*damping off*), layu *Fusarium* (*Gambar 1*) dan hawar serta bintik daun. Persekutan yang panas dan lembap menyebabkan jangkitan penyakit khususnya kulat merebak dengan cepat dan boleh menyebabkan kerugian hasil cili. Tambahan lagi, penyakit antraknos boleh menyebabkan kerugian hasil cili yang tinggi sehingga 50%. Penyakit lekur anak benih yang disebabkan oleh kulat *Pythium* boleh menyebabkan kematian anak benih di tapak semai sehingga 60%. Jangkitan layu *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*) menyebabkan daun menjadi kekuningan serta pertumbuhan terbantut dan pada serangan yang serius, pokok cili menjadi kering dan mati disebabkan gangguan pada vaskular sistem. Manakala penyakit hawar *Alternaria*



Gambar 1. Contoh penyakit yang sering menyerang tanaman cili. (a) Bintik berpusar, (b) Layu Fusarium dan (c) Lekur anak benih Pythium

dan bintik *Curvularia* bermula pada daun dengan membentuk bintik hitam yang kecil dan bulat pada daun tua dan seterusnya bercantum membentuk lesi lebih besar yang dikelilingi lingkaran berwarna coklat.

Penggunaan racun kimia seperti azoxytrobin, propineb dan mancozeb merupakan kaedah utama yang sering diguna pakai oleh petani bagi mengawal penyakit yang disebabkan oleh kulat pada tanaman cili. Namun begitu, penggunaan racun kimia yang berterusan boleh menjadikan kesihatan khususnya kepada petani dan mencemarkan alam sekitar. Oleh itu, kaedah alternatif diperlukan untuk mengurangkan kebergantungan petani terhadap racun kimia di samping menjamin keselamatan makanan.

Trichoderma sebagai agen kawalan berpotensi kepada penyakit bawaan tanah tanaman cili

Antara strategi bagi pengawalan perosak dan penyakit cili adalah menggunakan mikroorganisma berfaedah yang berpotensi sebagai agen kawalan biologi seperti *Trichoderma*. Antara mekanisme kawalan patogen penyakit oleh *Trichoderma* termasuklah pengeluaran antibiotik dan enzim, persaingan bagi mendapatkan nutrien dan mempunyai mekanisme pertahanan serta bersifat parasit terhadap kulat lain. Justeru, MARDI telah menjalankan kajian bagi menilai potensi *Trichoderma* yang telah disaring secara in vitro melalui kaedah dwikultur bagi mengawal penyakit tanaman cili. Keupayaan *Trichoderma* dalam merencatkan pertumbuhan patogen dalam saringan tersebut boleh menjadi potensi kepada pembangunan formulasi *Trichoderma* sebagai agen kawalan biologi bagi kegunaan di lapangan.

Pemencilan *Trichoderma* dan patogen penyakit cili

Sampel tanah diambil daripada tanah persekitaran tanaman cili yang ditanam di Ladang Organik MARDI, Serdang bagi pemencilan kulat spesies *Trichoderma* sebagai agen kawalan biologi. Bahagian pokok cili seperti buah, daun dan akar yang menunjukkan simptom serangan penyakit seperti bintik berpusar antraknos, layu *Fusarium*, lecur anak benih *Pythium*, hawar dan bintik daun dikenal pasti dan dibawa ke makmal untuk langkah selanjutnya. Seterusnya, buah, daun dan akar pokok dibasuh bagi membersihkan sisa kotoran dan tanah. Tisu yang berpenyakit kemudiannya dibasuh dan direndam selama 10 minit dalam larutan 10% sodium hipoklorik serta dibilas dengan air suling steril sebanyak tiga kali dan kemudiannya dikeringkan di atas kertas turas. Setelah dikeringkan, tisu tersebut diletakkan di atas permukaan *potato dextrose agar* (DIFCO, USA) dan dieram pada suhu 27 °C. Pengenalpastian spesies *Trichoderma* dan patogen penyakit dilakukan melalui keadaan morfologi pada peringkat awal dan disahkan melalui kaedah molekular.

Saringan dwikultur agen kawalan biologi ke atas patogen

Dalam saringan dwikultur, keupayaan *Trichoderma asperellum* dalam merencatkan pertumbuhan kulat patogen penyakit cili telah dinilai. Cakera agar *Trichoderma asperellum* bersaiz 0.5 cm diletakkan 2 cm daripada pinggir piring Petri dan cakera agar bersaiz yang sama bagi kulat patogen juga diletakkan 2 cm daripada pinggir Petri bertentangan dengan *Trichoderma asperellum*. Manakala bagi rawatan kawalan, piring Petri hanya diletakkan kulat patogen sahaja tanpa kehadiran *Trichoderma asperellum*. Kadar perencatan dinilai melalui formula peratusan pertumbuhan radial (PIRG) yang dibangunkan oleh Skidmore dan Dickinson seperti yang berikut:

$$\text{Kadar perencatan pertumbuhan kulat (\%)} = \frac{(R_1 - R_2)}{R_1} \times 100$$

Di mana:

Rr = Kadar perencatan pertumbuhan kulat

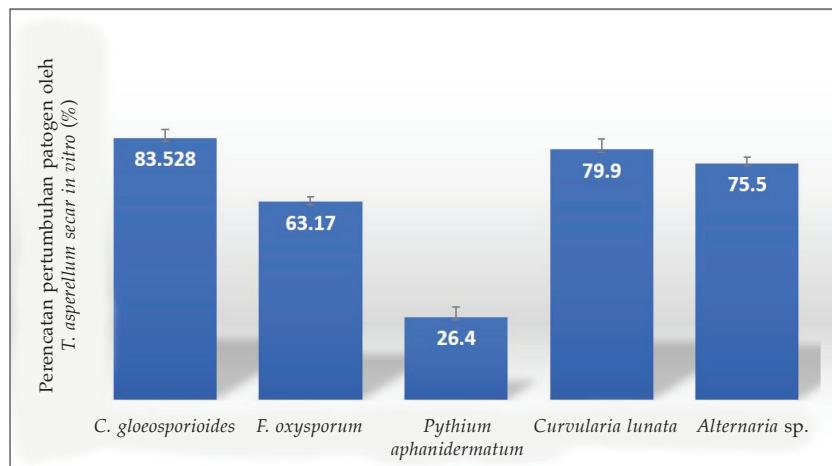
R1 = Diameter koloni kulat di atas piring Petri kawalan (mm)

R2 = Diameter koloni kulat piring terawat (mm)

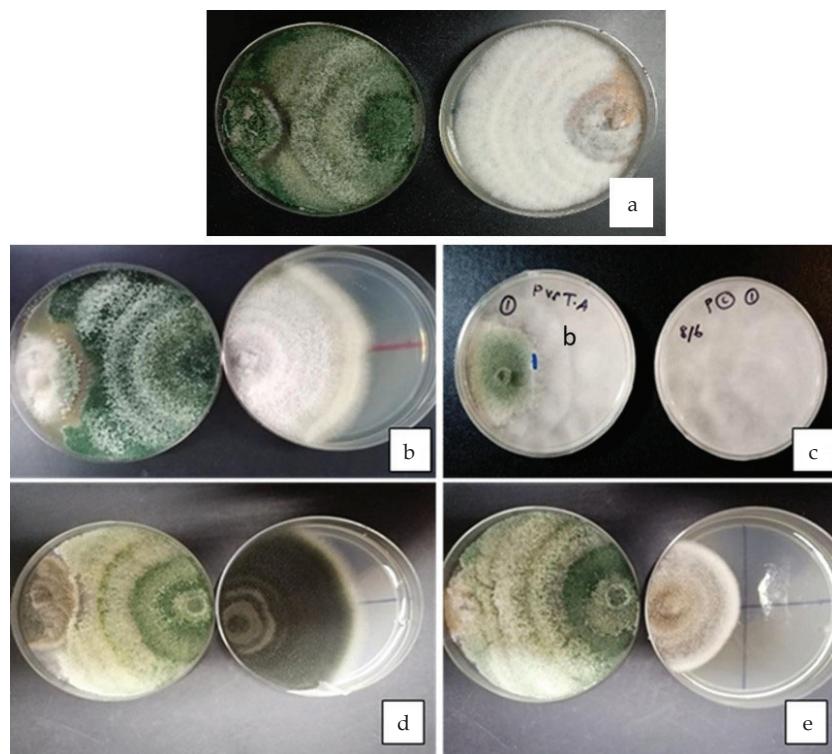
Potensi *Trichoderma* sebagai agen kawalan biologi kepada patogen penyakit cili

Dalam saringan dwikultur, perencatan pertumbuhan miselia patogen penyakit cili oleh *Trichoderma asperellum* yang telah dikenal pasti melalui kaedah molekular telah diperhatikan dan direkodkan sehingga hari ke-10 (Rajah 1). Dalam saringan ini, didapati *Trichoderma asperellum* berjaya merencatkan perumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata*, *Pythium aphanidermatum* dan *Alternaria* sp. Purata peratusan perencatan pertumbuhan miselia oleh *Trichoderma asperellum* ialah 83.5% terhadap *Colletotrichum gloeosporioides*, 60.2% terhadap *Fusarium oxysporum*, 26.4% terhadap *Pythium aphanidermatum*, 79.9% terhadap *Curvularia lunata* dan 75.5% untuk *Alternaria* sp. (Gambar 2).

Potensi *Trichoderma asperellum* sebagai agen kawalan biologi bagi penyakit cili dan tanaman lain telah dilaporkan di dalam banyak kajian. Gambar 2 menunjukkan dwikultur antara *Trichoderma asperellum* dan patogen penyakit cili yang telah dikenal pasti. Berdasarkan kajian yang dijalankan oleh MARDI, *Trichoderma asperellum* didapati berjaya merencatkan pertumbuhan patogen penyakit antraknos iaitu *Colletotrichum gloeosporioides* pada kadar 83.5%. Keberkesanan perencatan pertumbuhan patogen ini didapati adalah lebih baik berbanding dengan yang dilaporkan oleh Reynaldo dan Raul pada tahun 2018 di mana *Trichoderma asperellum* T2-31 hanya mampu merencatkan pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* sehingga 22.5% sahaja. Selain itu, *Trichoderma* spesies lain seperti *Trichoderma harzianum* dan *Trichoderma viride* turut dilaporkan sebagai agen kawalan biologi yang berpotensi. *Trichoderma harzianum* dan *Trichoderma viride* menunjukkan perencatan terhadap *Fusarium oxysporum* sehingga



Rajah 1. Perencatan pertumbuhan miselia (%) patogen penyakit cili oleh *Trichoderma asperellum* dalam saringan in vitro di atas potato dextrose agar (PDA)



Gambar 2. Saringan dwikultur *Trichoderma asperellum* terhadap patogen penyakit cili. (a) *Colletotrichum gloeosporioides*, (b) *Fusarium oxysporum*, (c) *Pythium*, (d) *Curvularia lunata* dan (e) *Alternaria sp.*

28.6%. Namun begitu, keberkesanan kedua-dua spesies *Trichoderma* ini didapati lebih rendah berbanding dengan *Trichoderma asperellum* dalam kajian yang dijalankan oleh MARDI yang berjaya merencatkan pertumbuhan *Fusarium oxysporum* sehingga 63.2%. Walau bagaimanapun, *Trichoderma asperellum* yang dipencarkan oleh Petra pada tahun 2019 menunjukkan kadar rencatan yang lebih tinggi iaitu 88.3% terhadap miselia *Fusarium oxysporum* yang dipencarkan daripada cili.

Bagi penyakit hawar *Alternaria*, *Trichoderma asperellum* TH mampu menghalang pertumbuhan *Alternaria* sp. sehingga 56% dalam ujian dwikultur. Namun, keputusan ini didapati lebih rendah berbanding dengan *Trichoderma asprellum* dalam kajian oleh MARDI yang berjaya merencatkan pertumbuhan *Alternaria* sp. sehingga 75.5%. Kajian pada tahun 2019 mendapati satu isolat *Trichoderma asperellum* mampu merencatkan pertumbuhan *Pythium aphanidermatum* MF356677 yang dipencarkan daripada tomato dengan kadar rencatan sebanyak 80.2%. Walau bagaimanapun, rencatan oleh *Trichoderma asperellum* terhadap *Pythium aphanidermatum* yang dipencarkan daripada cili dalam kajian MARDI adalah lebih rendah iaitu hanya pada kadar 26.4%. Bagi pengawalan penyakit cili *Curvularia lunata*, keberkesanan *Trichoderma asperellum* dalam kajian MARDI berjaya merencatkan pertumbuhan patogen ini pada kadar 79.9%. Keputusan ini didapati setara dengan kajian pada tahun 2018 yang mendapati *Trichoderma atroviride* juga mampu menghalang pertumbuhan *Curvularia lunata* pada kadar 80.0%.

Kesimpulan

Trichoderma asperellum telah diuji secara in vitro dalam saringan terhadap patogen penyakit cili dan didapati sifat antagonis pada kadar yang memberangsangkan terhadap kesemua patogen tersebut kecuali *Pythium aphanidermatum*. Data yang diperoleh adalah penting bagi penilaian dan pembangunan *Trichoderma asperellum* sebagai agen kawalan biologi penyakit cili di lapangan.

Penghargaan

Penulis ingin menyampaikan penghargaan kepada MARDI atas peruntukan wang Projek Pembangunan RMK12:P-RP-506 yang digunakan sepanjang kajian.

Bibliografi

- Ibrahim, E.E. dan Riad, S. (2010). Biological control of Pythium damping-off and root-rot diseases of tomato using Trichoderma isolates employed alone or in combination. *Jurnal of Plant Pathology* 101: 597 – 608
- Iftikhar, S., Shahid, A.A., Nawaz, K. dan Anwar, W. (2017). Potential of Trichoderma species as biocontrol agent against *Curvularia lunata* causing fruit rot of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.). 5th International Conference on Food, Agricultural, Biological and Medical Science. m.s. 77 – 83
- Jabatan Pertanian (2019). *Statistik Tanaman Sub Sektor Tanaman Makanan*. Jabatan Pertanian Malaysia (DOA). m.s. 63
- Luqman, A., Muhammad Zeshan, A., Saba, S., Muhammad Subhan, S., Rashida, P., Hafiz Arslan, A., Umer Ayyaz, A.S., Rashid, I., Safdar, A., Saira, A. dan Mustansar, A. (2022). First report of *Alternaria alternata* causing leaf spot on chili (*Capsicum annuum*) in Pakistan. *Plant Disease*. 106:107. Diperoleh dari <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-20-2706-PDN>
- Nadeem, A., Ahmad Ali, S., Sehrish, I., Mustansar, M., Muhamad Husnan, A., Yasha, J., Muhamad Kamran, N., Aimen, A. dan Agleem, A. (2020). Evaluations of Trichoderma isolates for biological control of Fusarium wilt of chilli. *Original Research Article Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology* 21(59 – 60): 42 – 57
- Narayana Bhat, M., Raghavendra Mesta, S.T., Yenjerappa, M.H., Tatagar, H.R., Sardana, D.S.S., Vennila, N.S. dan Mobin, A. (2016). Biological control of Fusarium wilt of chillies using Trichoderma spp. *Indian Journal of Horticulture* 73(1): 74 – 77
- Petra, A.H., Alfonso, A.C. dan Eduardo, O.H., (2019). Antagonism of Trichoderma spp. vs fungi associated with wilting of chilli. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas* 10(6): 1,259 – 1,272
- Reynaldo, D.L. dan Raul, R. (2018). Growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Phytophthora capsici* by native Mexican Trichoderma strains. *Karbala International Journal of Modern Science* 4(2): 237 – 243
- Sariah, M. (1994). Incidence of *Colletotrichum* spp. on chili in Malaysia and pathogenicity of *C. gloeosporioides*. *Biotrop Spec Publication*. 54: 103 – 120
- Skidmore, A.M. dan Dickinson, C.H. (1967). Colony interactions and hyphal interference between *Septoria Nodorum* and phylloplane fungi. *Transition of British Mycological Society* 66: 57 – 64
- Taghdi, Y., Hermosa, R., Domínguez, S., Rubio, M.B., Essalmani, H., Nicolás, C. dan Monte, E. (2015). Effectiveness of composites and Trichoderma strains for control of Fusarium wilt of tomato. *Phytopathologia Mediterranea* 54: 232

Ringkasan

Penyakit kulat adalah antara risiko yang dihadapi petani dalam pengeluaran cili. Penyakit tanaman kebiasaannya dikawal dengan penggunaan racun kulat sintetik. Spesies kulat *Trichoderma* dilaporkan mempunyai ciri antagonis yang didapati berpotensi mengawal serangan patogen tanaman cili seperti bintik berpusar antraknos, layu *Fusarium*, lekur anak benih *Pythium*, hawar dan bintik *Alternaria* serta *Curvularia*. Dalam kajian ini, ujian dwikultur dijalankan ke atas patogen penyakit cili secara *in vitro* bagi mendapatkan peratus perencatan oleh agen kawalan biologi yang berpotensi iaitu *Trichoderma asperellum*. Ujian dwikultur menunjukkan bahawa peratus perencatan pertumbuhan patogen cili iaitu *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium aphanidermatum*, *Curvularia lunata* dan *Alternaria* sp. oleh kulat antagonis *Trichoderma asperellum* adalah pada kadar 26.4 – 83.5%. Walaupun *Trichoderma asperellum* adalah spesies *Trichoderma* yang masih kurang diterokai, ia juga pernah dilaporkan sebagai agen kawalan biologi yang berpotensi mengawal beberapa jenis patogen tumbuhan. Oleh itu, tujuan kajian ini adalah untuk menilai kemampuan antagonis *Trichoderma asperellum* terhadap patogen cili secara *in vitro*. Keberkesanan sifat antagonis *Trichoderma asperellum* dalam mengawal patogen secara *in vitro* boleh dieksplotasi dalam pengurusan penyakit cili di lapangan.

Summary

Fungal disease is one of the major risks in chilli production. Generally, plant diseases are controlled using synthetic fungicides. *Trichoderma* fungal species are reported to have antagonistic properties that are able to effectively control chilli pathogens such as anthracnose, fusarium wilt, damping off *Pythium*, and blight and spot of *Alternaria* and *Curvularia*. In this study, the effectiveness of *Trichoderma asperellum* against phytopathogenic fungi chili disease was examined using the *in vitro* dual culture assay method. The dual culture assay revealed that the percentage of growth inhibition of chilli pathogens namely *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium aphanidermatum*, *Curvularia lunata*, and *Alternaria* sp. by *Trichoderma asperellum* were within the range of 26.4 – 83.5%. Although *Trichoderma asperellum* is an underexplored species of *Trichoderma*, this species has also been reported as a potential biological control agent for a wide range of plant pathogens. Thus, the aim of this research is to evaluate the antagonistic ability of *Trichoderma asperellum* towards chilli phytopathogenic fungi under *in vitro* conditions. The effectiveness of the antagonistic properties of *Trichoderma asperellum* in controlling plant pathogens via *in vitro* could be exploited in the management of chilli diseases under field conditions.

Pengarang

Nur Liyana Iskandar

Pusat Penyelidikan Sains Tanah, Air dan Baja

Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

E-mel: liyanais@mardi.gov.my

Zurin Aida Jamilan dan Nurul Huda Badarunzaman

Pusat Penyelidikan Sains Tanah, Air dan Baja

Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor