

**PENCIRIAN SECARA MORFOLOGI DAN
MOLEKUL, DAN UJIAN KEPATOGENAN
PENCILAN FUSARIUM DARIPADA BUAHAN
SAYURAN**

**NURULHUDA BINTI MOHD SANUSI
SASEETHARAN**

**UNIVERSITI SAINS MALAYSIA
2013**

**PENCIRIAN SECARA MORFOLGI DAN MOLEKUL, DAN UJIAN
KEPATOGENAN PENCILAN *FUSARIUM* DARIPADA BUAHAN SAYURAN**

Oleh

NURULHUDA BINTI MOHD SANUSI SASEETHARAN

**Tesis yang diserahkan untuk
memenuhi keperluan bagi
Ijazah Sarjana Sains**

Jun 2013

PENGHARGAAN

Alhamdulillah, bersyukur ke hardat Ilahi kerana dengan Rahmat dan kasih sayangNya saya diberikan semangat, kekuatan, kesabaran untuk menjalani kehidupan serta menyiapkan projek Ijazah Sarjana dan disertasi ini dengan lancar.

Tiada perkataan yang terbaik mampu difikirkan untuk menyampaikan rasa berterima kasih kepada penyelia projek saya iaitu Prof Madya Dr Latiffah Zakaria. Pengorbanan, kesabaran, sokongan dan semangat yang tidak putus-putus, serta bimbingan daripada beliau telah banyak membantu saya untuk menyiapkan kajian dan disertasi ini dengan jayanya. Selain sebagai penyelia, beliau turut adalah seorang teman yang dapat memberikan nasihat dan panduan yang terbaik, serta penyuntik semangat yang mampu membuatkan saya sentiasa bersemangat dan tenang setiap kali selepas berjumpa beliau. Setinggi-tinggi terima kasih di atas segala-galanya.

Setulus penghargaan saya tujukan buat mereka yang paling saya kasihi, ummi, abah dan ahli keluarga saya yang banyak berkorban. Sokongan, dorongan dan doa yang berterusan amat membantu dalam menjayakan kajian ini. Begitu juga dengan sahabat-sahabat saya Noorul Ain Mohd Akib, Mohammad Imran Zainal Abidin, Nor Azliza Ismail, Syarifah Najiha Syed Sulaiman dan Abdul Jadid Suhairi yang banyak meluangkan masa memberikan semangat dan dorongan sepanjang kajian tanpa jemu.

Setinggi-tinggi terima kasih buat semua rakan-rakan seperjuangan Heng Mei Hsuan, Chandra, Nik Mohd Izham, Leong Sau Kueen, Siti Nordahliawate, Masratul Hawa, Nurul Farah, Nurul Zaadah, Famiyah, Suziyanti, Kogeetha, Hazrati, Hafizi, Bintra, Malik, Nurul Farizah, Siti Nursyila, Farhana, Norlia, Darnatty, Hew Pui Yee, Teh Li yee, Suziana, Atikah, Husna, Nurun Najah, Nur Shakila, Nur Hawani, Radieah, Shahirah. Tidak dilupakan kepada En. Rahaman Abdullah dan En. Kamarudin Mohd Maidin yang banyak membantu, tanpa mereka semua kerja-kerja makmal amat sukar untuk dilaksanakan.

Penghargaan turut ditujukan kepada Universiti Sains Malaysia atas sokongan kewangan melalui Fellowship USM dan geran PGRS. Juga ucapan terima kasih khusus ditujukan kepada Prof. Baharuddin Salleh, Dr. Maziah Zakaria dan Dr Nurul Salmi yang telah membantu dan memberikan inspirasi. Tidak dilupakan semua staf-staf Pusat Pengajian Sains Kajihayat dan Pusat Pengajian Siswazah yang membantu memudahkan segala urusan sepanjang memenuhi pengajian saya, terima kasih.

Terima kasih semua.

ISI KANDUNGAN

PENGHARGAAN	ii
ISI KANDUNGAN	iv
SENARAI JADUAL	viii
SENARAI GAMBARAJAH	ix
SENARAI PLAT	x
SENARAI SIMBOL	xvii
SENARAI SINGKATAN	xviii
ABSTRAK	xix
ABSTRACT.....	xxi
BAB 1 – PENGENALAN	1
BAB 2 – TINJAUAN BAHAN BACAAN	
2.1 Buah-buahan Jenis Sayur	5
2.1.1 Order Cucurbitaceae	6
2.1.2 Order Solanaceous	7
2.1.3 Perusahaan Sayuran di Malaysia	9
2.2 Hasil Lepas Tuai	11
2.3 Penyakit Lepas Tuai	13
2.3.1 Jangkitan Pendam pada Buahhan Sayuran	16
2.4 Kepatogenan	17
2.4.1 Postulat Koch	18
2.5 Kulat <i>Fusarium</i>	19

2.5.1	Sejarah Taksonomi <i>Fusarium</i>	22
2.6	Kepentingan Kaedah Molekul	26
2.6.1	Kawasan Penjarak Intergen (IGS)	26
2.6.2	Teknik Tindak Balas Rantaian Polimerase Panjang Jalur Terpotong (PCR-RFLP).....	28
 BAB 3 – BAHAN DAN KAEDAH		
3.1	Persampelan	30
3.2	Pemencilan Spesies <i>Fusarium</i>	30
3.3	Media	32
3.4	Pemencilan Spora Tunggal	32
3.5	Pencirian Secara Morfologi	32
3.5.1	Ciri-ciri Makroskopik	33
3.5.2	Ciri-ciri Mikroskopik	33
3.6	Pengekalan Pencilan <i>Fusarium</i>	34
3.6.1	Agar Condong	35
3.6.2	Kepingan Daun Teluki	35
3.7	Ujian Kepatogenan	36
3.8	Pencirian Menggunakan Teknik Molekul	37
3.8.1	Pengekstrakan DNA	37
3.8.2	Penyediaan Gel Agarosa dan Elektroforesis	39
3.8.3	Penjujukan Gen Faktor Pemanjangan Translasi-1 α (TEF-1 α)	40
3.8.4	Penulinan Produk PCR	41
3.8.4(a)	Analisis Penjujukan DNA	43
3.8.5	Polimorfisma Panjang Jalur Terpotong (RFLP) Kawasan Penjarak Intergen (IGS)	44

3.8.5(a) Analisis Pembatasan Produk PCR	45
3.8.6 Analisis Data	46
 BAB 4 – KEPUTUSAN	
4.1 Kajian Morfologi	47
4.1.1 <i>Fusarium oxysporum</i>	50
4.1.2 <i>Fusarium semitectum</i>	52
4.1.3 <i>Fusarium solani</i>	54
4.1.4 <i>Fusarium proliferatum</i>	56
4.1.5 <i>Fusarium pseudocircinatum</i>	58
4.1.6 <i>Fusarium sacchari</i>	60
4.1.7 <i>Fusarium equiseti</i>	62
4.1.8 <i>Fusarium verticillioides</i>	64
4.2 Ujian Kepatogenan	66
4.2.1 Ujian Kepatogenan Pencilan <i>F. solani</i>	66
4.2.2 Ujian Kepatogenan Pencilan <i>F. oxysporum</i>	69
4.2.3 Ujian Kepatogenan Pencilan <i>F. proliferatum</i>	70
4.2.4 Ujian Kepatogenan Pencilan <i>F. semitectum</i>	71
4.2.5 Ujian Kepatogenan Pencilan <i>F. sacchari</i>	72
4.3 Tindak Balas Rantai Polimerase (PCR) dan Penjujukan Gen Faktor Pemanjangan Translasi-1a (TEF-1a)	73
4.3.1 Analisis Penjujukan DNA Gen Faktor Pemanjangan Translasi-1a (TEF-1a)	73
4.4 Polimorfisme Panjang Jalur Terpotong (RFLP) Kawasan Penjarak Intergen (IGS)	77
4.4.1 Analisis Berkelompok Corak Jalur Pembatasan IGS	96

BAB 5 – PERBINCANGAN	
5.1	Ciri-ciri Morfologi Spesies <i>Fusarium</i> 101
5.2	Ujian Kepatogenan 107
5.3	Analisis Penjujukan DNA Gen Faktor Pemanjangan Translasi-1 α (TEF-1 α) 116
5.4	Analisis Polimorfisme Panjang Jalur Terpotong (RFLP) Kawasan Penjarak Intergen (IGS) 118
BAB 6 – KESIMPULAN 127	
RUJUKAN 129	
LAMPIRAN	
SENARAI PENERBITAN	

SENARAI JADUAL

		Muka surat
Jadual 2.1	Senarai jenis penyakit lepas tuai yang melibatkan buahan sayuran disebabkan oleh kulat dan bakteria (Snowdon, 1991).	15
Jadual 3.1	Jenis buahan sayuran serta bilangan pencilan <i>Fusarium</i> yang diperolehi mengikut lokasi.	31
Jadual 3.2	Skala jangkitan pada buahan sayuran yang diadaptasi daripada Benyon <i>et al.</i> (1996).	37
Jadual 3.3	Peratus gel agarosa dan kadar kuasa larian elektroforesis mengikut ujian yang dijalankan.	39
Jadual 3.4	Pencilan-pencilan yang dibuat penjujukan DNA.	41
Jadual 3.5	Enzim pembatasan yang digunakan bagi analisis RFLP-IGS.	45
Jadual 4.1	Bilangan spesies <i>Fusarium</i> yang dikenalpasti menggunakan ciri-ciri morfologi	47
Jadual 4.2	Bilangan spesies <i>Fusarium</i> yang dikenalpasti menggunakan ciri-ciri morfologi dan penjujukan TEF-1 α	48
Jadual 4.3	Bilangan spesies <i>Fusarium</i> yang dipencilkan mengikut perumah.	49
Jadual 4.4	Senarai pencilan <i>Fusarium</i> yang patogenik mengikut perumah dan spesies.	67
Jadual 4.5	Peratusan kesamaan jujukan 28 pencilan <i>Fusarium</i> daripada GenBank dan FUSARIUM-ID.	74
Jadual 4.6	Perbandingan antara spesies yang dikenalpasti berdasarkan ciri-ciri morfologi dan jujukan TEF-1a.	76
Jadual 4.7	Corak jalur pembatasan (A-S) dan anggaran saiz jalur pembatasan (bp) menggunakan 10 jenis enzim pembatasan.	81
Jadual 4.8	Pencilan <i>Fusarium</i> yang digunakan dalam analisis RFLP-IGS dan haplotip yang dihasilkan daripada corak jalur pembatasan enzim yang berbeza.	84
Jadual 4.9	Pengelompokan 77 pencilan <i>Fusarium</i> berdasarkan dendrogram yang dihasilkan melalui analisis UPGMA.	98

SENARAI GAMBARAJAH

		Muka surat
Gambarajah 2.1	Menunjukkan kedudukan sayuran jenis buah di dalam komoditi sayuran (Wikipedia, 2010).	6
Gambarajah 2.2	Kedudukan kawasan Penjarak Intergen (IGS) (White <i>et al.</i> , 1990).	27
Gambarajah 4.1	Dendrogram hasil daripada analisis UPGMA berdasarkan jalur pembatasan kawasan IGS 77 pencilan <i>Fusarium</i> yang dipencilkan daripada sembilan jenis buahan sayuran.	97

SENARAI PLAT

		Muka surat
Plat 4.1	Warna koloni dan miselium udara pencilan <i>F. oxysporum</i> . (H) Permukaan atas koloni, (G) Permukaan bawah koloni (A - B): koloni berwarna putih dan ungu, pencilan peria (PRI S4 dan PRI S1), (C): koloni berwarna putih, pencilan tomato (TMT T1), (D): koloni berwarna putih dan merah pencilan bendi (BND J4).	50
Plat 4.2	Ciri-ciri mikroskopik pencilan <i>F. oxysporum</i> . (a) Makrokonidia dengan 3 dan 4 septa, (b) Mikrokonidia, (c) Monofialid pendek, (d) Kepala palsu pada CLA <i>in situ</i> , (e dan f) Klamidospora tunggal dan sepasang.	51
Plat 4.3	Warna koloni dan miselium udara pencilan <i>F. semitectum</i> . (H) Permukaan atas koloni, (G) Permukaan bawah koloni (A): koloni berwarna keemasan, pencilan bendi (BND JT1), (B): koloni berwarna kuning, pencilan bendi (BND R4).	52
Plat 4.4	Ciri-ciri mikroskopik pencilan <i>F. semitectum</i> . (a) Makrokonidia dengan 4 dan 5 septa, (b) Mikrokonidia dengan 1 dan tanpa septa, (c) Mesokonidia dengan 3 septa, (d) Monofialid, (e) Polifialid, (f) Telinga arnab dari mesokonidia, (g) Klamidospora sepasang dan berantai.	53
Plat 4.5	Warna koloni dan miselium udara pencilan <i>F. solani</i> . (H) Permukaan atas koloni, (G) Permukaan bawah koloni (A): koloni berwarna krim, pencilan bendi (BND G1), (B): koloni berwarna putih, pencilan tomato (TMT MI), (C - D): koloni berwarna krim, pencilan timun dan terung (TMN S1b dan TBP S1).	54
Plat 4.6	Ciri-ciri mikroskopik pencilan <i>F. solani</i> . (a) Makrokonidia dengan 8 dan 5 septa, (b) Mikrokonidia dengan 1 dan tanpa septa, (c) Monofialid, (d) Kepala palsu pada monofialid panjang, (e) Klamidospora sepasang dan tunggal.	55
Plat 4.7	Warna koloni dan miselium udara pencilan <i>F. proliferatum</i> . (H) Permukaan atas koloni, (G) Permukaan bawah koloni (A): koloni berwarna putih, pencilan peria (PRI N3), (B): koloni berwarna ungu, pencilan cili (LMH S4).	56

Plat 4.8	Ciri-ciri mikroskopik pencilan <i>F. proliferatum</i> . (a) Makrokonidia dengan 3 dan 5 septa, (b) Mikrokonidia tanpa septa, (c) Rantainya mikrokonidia, (d) Kepala palsu, (e) Monofialid, (f) Polifialid.	57
Plat 4.9	Warna koloni dan miselium udara pencilan <i>F. pseudocircinatum</i> . (H) Permukaan atas koloni, (G) Permukaan bawah koloni (A): koloni berwarna putih dan ungu dengan sedikit oren, pencilan cili (LMH T7), (B): koloni berwarna putih dan ungu cerah, pencilan bendi (BND S2).	58
Plat 4.10	Ciri-ciri mikroskopik pencilan <i>F. pseudocircinatum</i> . (a) Makrokonidia dengan 5 septa, (b) Makrokonidia dengan 3 septa, (c) Mikrokonidia dengan 1 dan tanpa septa, (d) Monofialid, (e) Polifialid dan kepala palsu, (f) hifa bergulung, (g dan h) Rantainya mikrokonidia sisi dengan sisi.	59
Plat 4.11	Warna koloni dan miselium udara pencilan <i>F. sacchari</i> . (H) Permukaan atas koloni, (G) Permukaan bawah koloni (A): koloni berwarna putih dan ungu cerah, pencilan cili (LMH T1), (B): koloni berwarna krim ke ungu, pencilan cili (LMH T4).	60
Plat 4.12	Ciri-ciri mikroskopik pencilan <i>F. sacchari</i> . (a dan b) Makrokonidia dengan 3 septa, (c) Mesokonidia dengan 1 dan 2 septa, (d) Mikrokonidia tanpa septa, (e) Kepala palsu, (f) Mesokonidia pada kepala palsu, (g) Polifialid, (h) Monofialid.	61
Plat 4.13	Warna koloni dan miselium udara pencilan <i>F. equiseti</i> . (H) Permukaan atas koloni, (G) Permukaan bawah koloni (A):koloni berwarna perang keemasan, pencilan bendi (BND S4).	62
Plat 4.14	Ciri-ciri mikroskopik pencilan <i>F. equiseti</i> . (a) Makrokonidia dengan 5 septa, (b) Makrokonidia pada monofialid, (c) sekelompok klamidospora, (d) Rantainya klamidospora, (e) Monofialid.	63
Plat 4.15	Warna koloni dan miselium udara pencilan <i>F. verticillioides</i> . (H) Permukaan atas koloni, (G) Permukaan bawah koloni (A): koloni berwarna krim dengan sedikit ungu cerah di bahagian tengah, pencilan bendi (BND T11).	64

Plat 4.16	Ciri-ciri mikroskopik pencilan <i>F. verticillioides</i> . (a) Makrokonidia dengan 4 septa, (b) Makrokonidia dengan 2 septa, (c) Mikrokonidia, (d) Kepala palsu, (e) Monofialid, (f) Rantai mikrokonia.	65
Plat 4.17	Gejala pada buah tomato, cili dan timun yang diinokulasi dengan pencilan <i>F. solani</i> (a) Gejala pada buah tomato hari ke-7 selepas diinokulasi dengan pencilan TMT M1. Buah tomato melembik dan miselium putih kelihatan pada kawasan luka. (b) Gejala pada buah tomato hari ke-14 selepas diinokulasi dengan pencilan TMT T2. Buah tomato semakin melembik dan miselium merebak ke kawasan sekitar luka. (c) Gejala pada cili pada hari ke-14 selepas diinokulasi dengan pencilan LMH S1. Cili diliputi miselium putih dan kawasan reput kelihatan berwarna keperangan. (d) Gejala pada timun pada hari ke-14 selepas diinokulasi dengan pencilan TMN S1b. Timun mereput dengan miselium putih merebak pada sebahagian besar buah.	68
Plat 4.18	Gejala pada buah tomato dan munggai yang diinokulasi dengan pencilan <i>F. oxysporum</i> selepas 14 hari inokulasi (a) Gejala pada buah tomato selepas diinokulasi dengan pencilan TMT M3. Buah tomato melembik dan miselium merebak ke kawasan sekitar luka. (b) Gejala pada buah munggai selepas diinokulasi dengan pencilan MNG R2. Munggai dipenuhi dengan miselium putih pada sebahagian besar buah.	69
Plat 4.19	Gejala pada buah tomato dan cili yang diinokulasi dengan pencilan <i>F. proliferatum</i> pada hari ke-14 selepas diinokulasi (a) Gejala pada buah tomato selepas diinokulasi dengan pencilan TMTC1. Sebahagian buah melembik dan mereput dan miselium putih kelihatan di sekitar kawasan luka. (b) Gejala pada cili selepas diinokulasi dengan pencilan LMH S4. Miselium putih kelihatan di sekitar kawasan luka dan juga merebak di sekitar tangkai, buah menjadi lembik dan mereput dengan warna keperangan.	71
Plat 4.20	Gejala pada kacang panjang pada hari ke-14 selepas diinokulasi dengan pencilan <i>F. semitectum</i> . Kacang panjang mengalami reput yang teruk dan bertukar menjadi warna keperangan dan sedikit hitam.	72

- Plat 4.21 Gejala pada cili pada hari ke-14 selepas diinokulasi dengan pencilan LMH T4. Buah kelihatan lembik dan mengalami reput dengan miselium putih meliputi sebahagian buah. 72
- Plat 4.22 Produk PCR gen TEF-1a dari beberapa pencilan *Fusarium*. C: kawalan, Lorong 1-7, 1: pencilan PRI N6 (*F. oxysporum*), 2: pencilan BND R3 (*F. semitectum*), 3: pencilan TMT G7 (*F. solani*), 4: pencilan BND T12 (*F. proliferatum*), 5: pencilan LMH T7 (*F. pseudocircinatum*), 6: pencilan LMH T4 (*F. sacchari*), 7: pencilan BND T11 (*F. verticillioides*); Lorong M: penanda 1Kb. 73
- Plat 4.23 Produk PCR kawasan IGS beberapa pencilan *Fusarium* diamplifikasi menggunakan pencetus CNS1 dan CNL12. Lorong M: penanda 1Kb; Lorong 1-13: 1: pencilan TMT G4 (*F. oxysporum*), 2: pencilan BND T4 (*F. oxysporum*), 3: pencilan KPJ N1 (*F. semitectum*), 4: pencilan PTL S4 (*F. semitectum*), 5: pencilan BND S4 (*F. equiseti*), 6: pencilan TMT M1 (*F. solani*), 7: pencilan PRI G1 (*F. solani*), 8: pencilan TMT C1 (*F. proliferatum*), 9: pencilan BND T8 (*F. proliferatum*), 10: pencilan LMH T7 (*F. pseudocircinatum*), 11: pencilan LMH T4 (*F. sacchari*), 12: pencilan LMH T1 (*F. sacchari*), 13: pencilan BND T11 (*F. verticillioides*); Lorong M: penanda 100 bp. 77
- Plat 4.24 **(a-b):** Corak jalur pembatasan *Msp* I pencilan-pencilan *Fusarium* daripada buahan sayuran. 79
Plat 4.24 (a): Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-10: 1: haplotip A, LMH T1 (*F. sacchari*), 2: haplotip B, BND T9 (*F. proliferatum*), 3: haplotip C, PRI N2b (*F. oxysporum*), 4: haplotip D, BND S2 (*F. pseudocircinatum*), 5: haplotip E, BND S4 (*F. equiseti*), 6: haplotip F, TMT C1 (*F. proliferatum*), 7: haplotip G, TMT T2 (*F. solani*), 8: haplotip H, BND T11 (*F. verticillioides*), 9: haplotip I, LJH N1 (*F. semitectum*), 10: haplotip J, TMT G4 (*F. oxysporum*); Lorong M: Penanda 100 bp.
Plat 4.24 (b): Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-9: 1: haplotip K, TMT G2 (*F. oxysporum*), 2: haplotip L, LMH S1 (*F. solani*), 3: haplotip M, PRI N4 (*F. oxysporum*), 4: haplotip N, BND T1 (*F. semitectum*), 5: haplotip O, BND R3 (*F. semitectum*), 6: haplotip P, TMN N2 (*F. oxysporum*), 7: haplotip Q, LMH T5 (*F. pseudocircinatum*), 8: haplotip R, TMT M1 (*F. solani*), 9: haplotip S, MNG R1 (*F. solani*); Lorong M: Penanda 100 bp.

- Plat 4.25 **(a-b):** Corak jalur pembatasan *Alu I* pencilan-pencilan *Fusarium* daripada buahan sayuran. 80
- Plat 4.25 (a):** Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-12: 1: haplotip A, BND R3 (*F. semitectum*), 2: haplotip B, PTL S4 (*F. semitectum*), 3: haplotip C, LMH S1 (*F. solani*), 4: haplotip D, MNG R1 (*F. solani*), 5: haplotip E, TMT T1 (*F. oxysporum*), 6: haplotip F, TMT M1 (*F. solani*), 7: haplotip G, BND T11 (*F. verticillioides*), 8: haplotip H, BND S4 (*F. equiseti*), 9: haplotip I, TPJ T1 (*F. proliferatum*), 10: haplotip J, LMH T1 (*F. sacchari*), 11: haplotip K, TMT G7 (*F. solani*), 12: haplotip L, PRI S3 (*F. oxysporum*); Lorong M: Penanda 100 bp.
- Plat 4.25 (b):** Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-3: 1: haplotip M, TMT G2 (*F. oxysporum*), 2: haplotip N, TPJ T3 (*F. proliferatum*), 3: haplotip O, LMH T5 (*F. pseudocircinatum*); Lorong M: Penanda 100 bp.
- Plat 4.26 Corak jalur pembatasan *Bsp 143I* pencilan-pencilan *Fusarium* daripada buahan sayuran. Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-14: 1: haplotip A, BND J2 (*F. semitectum*), 2: haplotip B, KPJ N1 (*F. semitectum*), 3: haplotip C, MNG R3 (*F. solani*), 4: haplotip D, BND N1 (*F. oxysporum*), 5: haplotip E, TBP S2 (*F. pseudocircinatum*), 6: haplotip F, TMT G3 (*F. oxysporum*); 7: haplotip G, BND T11 (*F. verticillioides*), 8: haplotip H, LMH T3 (*F. solanii*), 9: haplotip I, BND R4 (*F. semitectum*), 10: haplotip J, PTL N2 (*F. semitectum*), 11: haplotip K, BND T12 (*F. proliferatum*), 12: haplotip L, PRI N2b (*F. oxysporum*), 13: haplotip M, TMT T2 (*F. solani*), 14: haplotip N, LMH T4 (*F. sacchari*); Lorong C: Kawalan. 87
- Plat 4.27 Corak jalur pembatasan *Taq I* pencilan-pencilan *Fusarium* daripada buahan sayuran. Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1: Baris 1-11: 1: haplotip A, TBP S2 (*F. pseudocircinatum*); 2: haplotip B, TMT G5 (*F. oxysporum*), 3: haplotip C, TBP S1 (*F. solani*), 4: haplotip D, TMT T3 (*F. solani*), 5: haplotip E, BND T11 (*F. verticillioides*), 6: haplotip F, TMT C1 (*F. proliferatum*), 7: haplotip G, LMH T3 (*F. solani*), 8: haplotip H, KPJ N1 (*F. semitectum*), 9: haplotip I, TPJ T4 (*F. semitectum*), 10: haplotip J, PTL S4 (*F. semitectum*), 11: haplotip K, TMN S1 (*F. equiseti*), 12: haplotip L, PRI N2a (*F. semitectum*); Lorong C: Kawalan; Lorong M: Penanda 100 bp. 88

- Plat 4.28 **(a-b):** Corak jalur pembatasan *Rsa* I pencilan-pencilan *Fusarium* daripada buahan sayuran. 89
Plat 4.28 (a): Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-7: 1: haplotip A, LMH T1 (*F. sacchari*); 2: haplotip B, TMT M3 (*F. oxysporum*), 3: haplotip C, MNG R3 (*F. solani*), 4: haplotip D, BND S2 (*F. pseudocircinatum*), 5: haplotip E, PRI S3 (*F. oxysporum*), 6: haplotip F, TMT C1 (*F. proliferatum*), 7: haplotip G, BND T11 (*F. verticillioides*); Lorong M: Penanda 100 bp.
Plat 4.28 (b): Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-4: 1: haplotip H, BND S4 (*F. equiseti*), 2: haplotip I, TPJ T4 (*F. semitectum*), 3: haplotip J, TMT T1 (*F. oxysporum*); Lorong C: Kawalan.
- Plat 4.29 **(a-b):** Corak jalur pembatasan *Pst* I pencilan-pencilan *Fusarium* daripada buahan sayuran. 90
Plat 4.29 (a): Lorong 1-5: 1: haplotip A, PRI S2 (*F. semitectum*), 2: haplotip B, BND T1 (*F. semitectum*), 3: haplotip C, BND S4 (*F. equiseti*), 4: haplotip D, TMT T2 (*F. solani*), 5: haplotip E, LMH T4 (*F. sacchari*); Lorong M: Penanda 100 bp.
Plat 4.29 (b): Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-5: 1: haplotip F, LMH S1 (*F. solani*); 2: haplotip G, BND T8 (*F. proliferatum*), 3: haplotip H, BND T11 (*F. verticillioides*), 4: haplotip I, LMH T7 (*F. pseudocircinatum*), 5: haplotip J, TMT G7 (*F. solani*).
- Plat 4.30 Corak jalur pembatasan *Eco* RI pencilan-pencilan *Fusarium* daripada buahan sayuran. Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-10: 1: haplotip A, PRI G1 (*F. solani*), 2: haplotip B, BND S4 (*F. equiseti*), 3: haplotip C, BND T11 (*F. verticillioides*), 4: haplotip D, PRI S3 (*F. oxysporum*), 5: haplotip E, LMH T4 (*F. sacchari*), 6: haplotip F, TBP S3 (*F. solani*); 7: haplotip G, BND JT1 (*F. semitectum*), 8: haplotip H, TPJ T3 (*F. proliferatum*), 9: haplotip I, LMH S1 (*F. solani*), 10: haplotip J, TMT T3 (*F. solani*); Lorong M: Penanda 100 bp. 91
- Plat 4.31 Corak jalur pembatasan *Bsu* RI pencilan-pencilan *Fusarium* daripada buahan sayuran. Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-10: 1: haplotip A, LMH S1 (*F. solani*), 2: haplotip B, PRI N2a (*F. semitectum*), 3: haplotip C, PRI N3 (*F. proliferatum*), 4: haplotip D, LMH T4 (*F. sacchari*), 5: haplotip E, PRI S3 (*F. oxysporum*), 6: haplotip F, TBP S2 (*F. pseudocircinatum*); 7: haplotip G, BND JT1 (*F. semitectum*), 8: haplotip H, BND S4 (*F. equiseti*), 9: haplotip I, BND G1 (*F. solani*), 10: haplotip J, BND T11 (*F. verticillioides*); Lorong C: Kawalan; Lorong M: Penanda 100 bp. 91

- Plat 4.32 Corak jalur pembatasan *Hind* III pencilan-pencilan *Fusarium* daripada buahan sayuran. Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-6: 1: haplotip A, TMT T1 (*F. oxysporum*), 2: haplotip B, LJH N1 (*F. semitectum*), 3: haplotip C, BND J6 (*F. semitectum*), 4: haplotip D, TMN S1 (*F. equiseti*), 5: haplotip E, LMH T4 (*F. sacchari*), 6: haplotip F, MNG R1 (*F. solani*); Lorong C: kawalan; Lorong M: Penanda 100 bp. 92
- Plat 4.33 Corak jalur pembatasan *Bsu* 15I pencilan-pencilan *Fusarium* daripada buahan sayuran. Lorong M: Penanda 100 bp; Lorong 1-6: 1: haplotip A, BND J2 (*F. semitectum*), 2: haplotip B, PRI N5 (*F. proliferatum*), 3: haplotip C, LMH T7 (*F. pseudocircinatum*), 4: haplotip D, TMN S1 (*F. equiseti*), 5: haplotip E, MNG R2 (*F. oxysporum*), 6: haplotip F, TMT M5 (*F. solani*); Lorong M: Penanda 100 bp. 93

SENARAI SIMBOL

α	Alfa
®	Registered / Berdaftar
°C	Darjah Celsius
ml	Mikroliter
μm	Mikrometer
bp	Base pair
cm	Sentimeter
g	Gram
ha	Hektar
kb	Kilobase
mA	Miliampere
mg	Miligram
min	Minit
ml	Mililiter
mm	Milimeter
mM	Milimolar
ng	Nanogram
p.s.i	Pressure per square inch
V	Volt

SENARAI SINGKATAN

AFLP	Amplifikasi Keganjangan Pecahan Polimorfisme
AP-PCR	Pencetus Arbitrari Tindak Balas Rantaian Polimerase
BEA	Beauvericin
BLAST	Basic Local Alignment Search Tools
CLA	Agar Cebisan Daun Teluki
dNTP	Deoxyribonucleotide triphosphate
ERIC	Konsensus Berulang Kawasan Antara Gen Enterobakteria
EF	Faktor pemanjangan / Pencetus
FUM	Fumonisin
IGS	Penjarak Intergen
ITS	Penjarak Transkripsi Dalam
MARDI	Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia
MEGA	Molecular Evolutionary Genetic Analysis
MON	Moniliformin
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NTSYS	Numerical Taxonomy System of Multivariate System
PDA	Agar Kentang Dektrosa
PPA	Agar Pepton Pentakloronitrobenzena
PSA	Agar Kentang Sukrosa
RAMS	Amplifikasi Rawak Mikrosatelit
RAPD	Amplifikasi Rawak Polimorfisme DNA
rDNA	DNA ribosom
RFLP	Polimorfisme Panjang Jalur Terpotong
rpm	Pusingan per minit
SMC	Koefisien padanan ringkas (simple matching coefficient)
TBE	Tris-borate EDTA
TEF-1 α	Faktor Pemanjangan Translasi-1 alfa
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
WA	Agar Air
ZEN	Zearalenone

**PENCIRIAN SECARA MORFOLOGI DAN MOLEKUL, DAN UJIAN
KEPATOGENAN PENCILAN *FUSARIUM* DARIPADA BUAHAN SAYURAN**

ABSTRAK

Fusarium merupakan salah satu spesies kulat yang sering menyebabkan penyakit lepas tuai buahan sayuran. Kajian ini dijalankan untuk memencil kulat *Fusarium* daripada buahan sayuran yang reput untuk menentukan kehadiran dan assosiasi pencilan-pencilan *Fusarium* dengan reput buahan sayuran. Sembilan jenis buahan sayuran iaitu bendi (*Abelmoschus esculentus*), tomato (*Solanum lycopersicum*), peria (*Memordica charantia*), cili merah (*Capsicum annum*), terung (*Solanum melongena*), timun (*Cucumis sativus*), munggai (*Moringa olifel*), petola (*Luffa acutangula*) dan kacang panjang (*Vigna sesquipedalis*) yang diperolehi daripada beberapa buah pasar, pasaraya, Jabatan Pertanian Relau dan kebun sayur di sekitar Pulau Pinang dan Gurun, Kedah telah digunakan dalam kajian ini. Lapan puluh tiga pencilan *Fusarium* berjaya dipencilkan daripada gejala reput buahan sayuran dan berdasarkan ciri-ciri morfologi, lapan spesies telah dikenalpasti iaitu *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. proliferatum*, *F. pseudocircinatum*, *F. sacchari*, *F. equiseti*, dan *F. verticillioides*. Daripada ujian kepatogenan menggunakan 70 pencilan *Fusarium*, hanya 21 pencilan didapati patogenik melalui rawatan luka dan lima pencilan patogenik melalui rawatan tanpa luka. Pencilan-pencilan yang patogenik adalah 12 pencilan *F. solani*, empat pencilan *F. oxysporum*, tiga pencilan *F. proliferatum*, satu pencilan *F. semitectum* dan satu pencilan *F. sacchari*. Melalui penjujukan gen TEF-1 α , 16 pencilan dari seksyen Liseola serta 12 pencilan yang tidak dapat

dikenalpasti secara morfologi telah berjaya dikenalpasti, di mana enam spesies dikenalpasti sebagai *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. verticillioides*, *F. pseudocircinatum*, *F. solani* dan *F. sacchari*. Teknik gabungan Tindak Balas Rantaian Polimerase dan Polimorfisme Panjang Jalur Terpotong (PCR-RFLP) kawasan Penjarak Intergen (IGS) menggunakan 10 enzim pembatasan iaitu *Msp* I, *Alu* I, *Bsp* 1431, *Taq* I, *Rsa* I, *Pst* I, *Eco* RI, *Bsu* RI, *Hind* III dan *Bsu* 15I digunakan untuk pencirian 77 pencilan *Fusarium*. Jalur pembatasan yang dihasilkan adalah sangat bervariasi dan melalui analisa kluster UPGMA menunjukkan secara amnya pencilan daripada spesies yang sama dikelompokkan dalam kluster yang sama. Kehadiran beberapa spesies *Fusarium* pada beberapa jenis buahan sayuran mengusulkan bahawa buahan sayuran berkecenderungan dicemari oleh kulat *Fusarium*. Pencemaran oleh spesies *Fusarium* boleh memudaratkan kesihatan apabila buah-buahan sayuran yang telah dicemari dimakan, kerana beberapa spesies *Fusarium* yang diperolehi daripada kajian ini boleh menghasilkan mikotoksin.

**MORPHOLOGY AND MOLECULAR CHARACTERIZATION, AND
PATHOGENICITY TEST OF *FUSARIUM* ISOLATES FROM FRUIT
VEGETABLES**

ABSTRACT

Fusarium is one of the most common fungal species causing post-harvest diseases on fruit vegetable. A study was conducted to isolate *Fusarium* from rotting fruit vegetable to determine the presence and association of *Fusarium* isolates towards the fruit vegetable. Nine types of fruit vegetables namely okra (*Abelmoschus esculentus*), tomato (*Solanum lycopersicum*), bitter melon (*Momordica charantia*), red chilli (*Capsicum annum*), brinjal (*Solanum melongena*), cucumber (*Cucumis sativus*), Indian okra (*Moringa olifera*), loofah (*Luffa acutangula*) and long bean (*Vigna sesquipedalis*) which were obtained from several markets, hypermarkets, Relau Agriculture Department and vegetable farms in Penang Island and Gurun, Kedah were used in this study. Eighty-three *Fusarium* isolates were successfully isolated from fruit vegetable rot symptom and based on morphological characteristics, eight species were identified, namely *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. proliferatum*, *F. pseudocircinatum*, *F. sacchari*, *F. equiseti*, and *F. verticillioides*. From pathogenicity test using 70 isolates, only 21 isolates were pathogenic through wounded treatment and five isolates through non-wounded treatment. The pathogenic isolates were 12 isolates of *F. solani*, four isolates of *F. oxysporum*, three isolates of *F. proliferatum*, one isolate of *F. semitectum* and one isolate of *F.*

sacchari. From DNA sequencing of TEF-1 α gene, 16 isolates from Liseola section and 12 isolates that cannot be identified morphologically were successfully identified, in which six species successfully identified as *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. verticillioides*, *F. pseudocircinatum*, *F. solani* and *F. sacchari*. Combination of Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) of Intergenic Spacer region (IGS) using 10 restriction enzymes, *Msp* I, *Alu* I, *Bsp* 1431, *Taq* I, *Rsa* I, *Pst* I, *Eco* RI, *Bsu* RI, *Hind* III and *Bsu* 15I was used to characterize the 77 isolates of *Fusarium*. The restriction patterns produced showed highly variable patterns and from UPGMA cluster analysis showed that generally the isolates from the same species were clustered in the same cluster. The presence of several *Fusarium* species on several fruit vegetables suggested that fruit vegetables are prone to *Fusarium* contamination. Contamination by *Fusarium* species could pose health hazard when contaminated fruit vegetables are consumed because several *Fusarium* species that recovered in this study are able to produce mycotoxins.

BAB 1

PENGENALAN

Buahan sayuran jika dirujuk dari segi botani merupakan sayuran jenis buah contohnya tomato, terung, cili, timun dan pelbagai jenis kacang (Snowdon, 1991). Buah sayuran merupakan antara sumber makanan yang penting dalam hidangan seharian di seluruh dunia kerana mempunyai sumber nutrien yang tinggi. Kajian-kajian yang telah dijalankan terhadap buah sayuran mendapati komposisi nutrien yang terkandung di dalamnya dapat membantu menangani masalah-masalah kesihatan seperti penyakit hati, kencing manis, darah tinggi serta kanser. Pakar-pakar kulit pula mendapati kandungan nutrien buah sayuran boleh melambatkan proses penuaan dan banyak digunakan sebagai salah satu bahan alat solek atau produk kosmetik.

Seperti tanaman-tanaman lain, buah sayuran turut menghadapi masalah serangan penyakit. Antara penyakit yang sering menjangkiti buah sayuran adalah reput lepas tuai. Jangkitan penyakit lepas tuai oleh kulat dan bakteria merupakan antara faktor utama kerugian kerana kerosakan atau reput pada buah sayuran mengurangkan kualiti dan kuantiti buah sayuran yang dapat dipasarkan. Antara kulat yang menyebabkan penyakit lepas tuai adalah *Colletotrichum*, *Aspergillus*, *Rhizopus* dan *Fusarium*, manakala bakteria pula seperti *Erwinia*, *Xanthomonas* dan *Pseudomonas*. Kebanyakan patogen-patogen ini memasuki tisu buah sayuran melalui kecederaan mekanikal dan penembusan terus oleh patogen tersebut (Tournas, 2005).

Spesies *Fusarium* adalah antara kulat yang sering menyebabkan reput lepas tuai pada buahan sayuran (Snowdon, 1991). *Fusarium* merupakan kulat tularan tanah yang mempunyai bilangan spesies yang sangat banyak dan menyebabkan penyakit pada pelbagai jenis tumbuhan termasuklah buahan sayuran (Moss dan Smith, 1984). Jangkitan oleh *Fusarium* mengakibatkan buahan sayuran mengalami gejala reput, lembik dan berair (Snowdon, 1991) dan boleh membahayakan kesihatan pengguna dengan cara menghasilkan toksin yang dikenali sebagai mikotoksin (Tournas, 2005).

Spesies *Fusarium* terdapat dalam bentuk patogenik dan bukan patogenik, di mana terdapat teori yang mengatakan bahawa kemungkinan spesies yang patogenik berasal dari bentuk bukan patogenik (Gordon dan Martyn, 1997). Oleh itu, bagi membuktikan bahawa pencilan yang diperolehi adalah bersifat patogenik atau pun bukan patogenik terhadap buahan sayuran, ujian kepatogenan dijalankan (Agrios, 2005).

Pengecaman dan pencirian spesies *Fusarium* secara asasnya adalah berdasarkan kepada perbezaan ciri-ciri morfologi seperti bentuk makrokonidia dan mikrokonidia, kehadiran klamidospora, kadar pertumbuhan dan pigmentasi (Leslie dan Summerell, 2006). Namun, spesies *Fusarium* boleh berubah dari segi morfologi dan fisiologi bagi membolehkannya beradaptasi dalam keadaan persekitaran yang baru. Oleh yang demikian, keadaan ini menyebabkan kekeliruan dan kesukaran untuk mengenalpasti spesies dengan betul (Booth, 1971). Kebanyakan spesies *Fusarium* sangat sukar untuk dikenalpasti dengan hanya menggunakan ciri-ciri morfologi terutamanya spesies daripada seksyen *Liseola*, namun mengenalpasti spesies menggunakan ciri-ciri morfologi masih perlu bagi membolehkan pengasingan pencilan-pencilan kepada

kumpulan yang tertentu sebelum menggunakan kaedah lain bagi mengenalpasti spesies (Leslie dan Summerell, 2006).

Kaedah molekul digunakan secara meluas oleh ahli-ahli taksonomi dan fitopatologi kerana keputusan yang diperolehi daripada kaedah molekul dapat digunakan bagi menyokong keputusan menggunakan kaedah morfologi untuk tujuan mengenalpasti spesies (Waller *et al.*, 2001). Antara kaedah-kaedah molekul yang sering digunakan untuk mengenalpasti dan mencirikan spesies-spesies *Fusarium* adalah teknik berasaskan Tindak Balas Rangkaian Polimerase (PCR) seperti penjujukan gen Faktor Pemanjangan Translasi-1a (TEF-1a) dan Polimorfisme Panjang Jalur Terpotong (RFLP) kawasan Penjarak Intergen (IGS) (RFLP-IGS).

Gen TEF-1a adalah gen pengkodan protein yang sering digunakan untuk mengenalpasti dan mengkaji pertalian filogenetik spesies *Fusarium*. Gen ini telah dilaporkan dapat memberikan maklumat terperinci spesies *Fusarium* yang mempunyai pertalian yang rapat dan gen ini juga wujud sebagai salinan tunggal dan bukan ortolog yang boleh memberikan maklumat yang berguna pada peringkat spesies. Oleh itu, penjujukan gen TEF-1a digunakan untuk mengenalpasti spesies *Fusarium* yang sukar atau tidak dapat dikenalpasti menggunakan ciri-ciri morfologi dan juga untuk memastikan identiti spesies yang telah dikenalpasti menggunakan ciri-ciri morfologi adalah betul (Geiser *et al.*, 2004).

Kaedah RFLP-IGS sesuai digunakan dalam kajian pencirian spesies *Fusarium*, di mana kaedah ini dapat menunjukkan polimorfisma atau variasi genetik antara pencilan dan sangat berguna untuk menunjukkan perbezaan spesies atau subspecies

yang mempunyai pertalian yang rapat (O'Donnell dan Gray, 1995; Lee *et al.*, 2000; Llorens *et al.*, 2006; Patino *et al.*, 2006).

Maklumat yang berkaitan dengan spesies *Fusarium* yang menyebabkan reput lepas tuai buahan sayuran masih terhad. Mengenalpasti spesies *Fusarium* yang menyebabkan reput lepas tuai buahan sayuran adalah penting kerana kebanyakan spesies *Fusarium* menghasilkan mikotoksin yang berkemungkinan boleh memberikan kesan ke atas kesihatan pengguna. Dengan mengetahui kehadiran spesies *Fusarium* pada buahan sayuran, langkah-langkah kawalan untuk mengelakkan penyakit lepas tuai dapat dilakukan.

Oleh itu, objektif kajian ini adalah:

1. Memencil dan mengenalpasti spesies *Fusarium* daripada buahan sayuran berdasarkan ciri-ciri morfologi, serta mengenalpasti spesies menggunakan jujukan TEF-1a bagi pencilan yang sukar dikenalpasti menggunakan ciri-ciri morfologi.
2. Menjalankan ujian kepatogenan setiap spesies *Fusarium* yang berjaya dipencilkan untuk memastikan spesies tersebut adalah patogen sebenar yang menyebabkan jangkitan ke atas buahan sayuran.
3. Mencirikan pencilan-pencilan *Fusarium* yang telah dikenalpasti menggunakan teknik RFLP kawasan IGS (RFLP-IGS) untuk menentukan pertalian interspesies dan intraspesies pencilan-pencilan *Fusarium* tersebut.

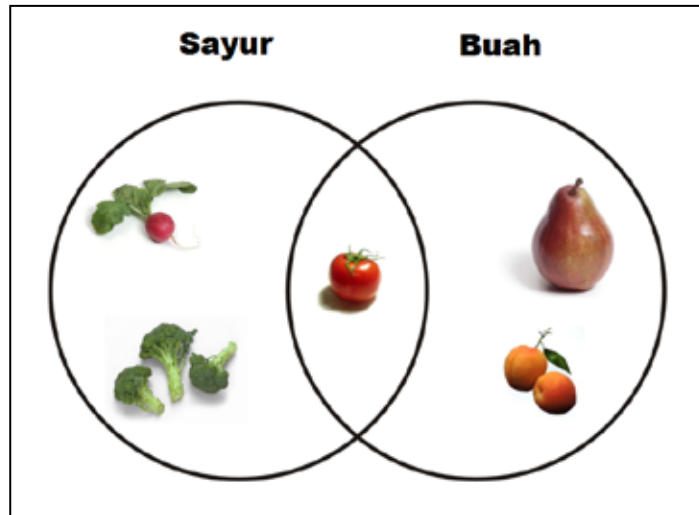
BAB 2

TINJAUAN BAHAN BACAAN

2.1 Buah-buahan Jenis Sayur

Istilah sayuran merangkumi pelbagai bahagian tumbuhan yang lembut dan sukulen (Ismail, 2000), yang diagihkan kepada empat kumpulan, iaitu jenis daun, bunga, akar dan buah yang digunakan dalam bahan masakan (Idris, 1990). Selain digoreng, direbus, dan dijadikan hidangan pencuci mulut seperti kek lobak merah, sayuran turut dihidang sebagai ulam-ulaman yang mengandungi kandungan zat yang tinggi yang tidak hilang akibat suhu masakan. Kandungan nutrisi seperti protein, karbohidrat, vitamin, sumber tenaga melalui sayuran jenis ubi, dan bahan pelawas daripada sayuran jenis daun serta buah, menjadikan sayuran sebagai bahan makanan penting dalam diet manusia (Idris, 1990).

Setengah daripada sayuran ini terdiri daripada jenis buah, iaitu buah yang juga dikelaskan sebagai sayur (Rajah 2.1). Komoditi ini dirujuk sebagai sayuran jenis buah atau pun buahan jenis sayuran (Snowdon, 1991). Antara contoh buah-buahan jenis sayuran adalah bendi, tomato, terung, cili, petola, peria dan timun. Semua sayuran dalam kumpulan ini membekalkan mineral dan vitamin selain daripada menambah rasa di dalam hidangan.



Gambarajah 2.1: Menunjukkan kedudukan sayuran jenis buah di dalam komoditi sayuran. (Wikipedia, 2010)

2.1.1 Famili Cucurbitaceae

Kedua-dua buahan sayuran, timun dan petola dikelaskan dalam famili Cucurbitaceae di mana kebanyakan buah di dalam kumpulan ini mempunyai kulit yang tebal, bentuk yang panjang, namun ada juga yang berbentuk bulat seperti bola contohnya tembikai dan labu. Kandungan air yang sangat tinggi menjadikan buahan sayuran jenis ini sering dipilih menjadi hidangan pencuci mulut seperti tembikai dan tembikai susu serta turut dijadikan sebahagian daripada agen kosmetik sebagai pelembap contohnya timun (Snowdon, 1991).

Timun atau nama saintifiknya *Cucumis sativus* berasal dari negara India, berbentuk silinder panjang, berwarna hijau atau kuning apabila masak (Britannica Academic Edition, 2011). Timun adalah sejenis sayur yang dihidang mentah, mengandungi air yang tinggi sehingga 90% bukan sahaja baik untuk kesihatan, malah juga bagus untuk kecantikan dalaman mahupun luaran (Wikipedia, 2011a).

Timun sering digunakan dalam bahan kosmetik, malah sejak dari dahulu kala sehinggalah kini, ia digunakan sebagai bahan penyejuk dan pelembab kulit.

Petola (*Luffa acutangula*) terkenal di sekitar Asia dan Afrika di mana buah ini terdiri daripada dua jenis spesies iaitu *Luffa acutangula* dan *Luffa cylindrica*. Buah petola berwarna hijau, berbentuk silinder panjang dan berkulit kasar sering digunakan dalam masakan harian, seratnya pula boleh dijadikan sebagai span untuk membasuh (Wikipedia, 2011b).

2.1.2 Famili Solanaceae

Solanaceae terdiri daripada tomato, cili dan terung. Buah-buahan sayuran jenis ini biasanya bersaiz kecil dan memiliki kulit yang lebih lembut dibandingkan dengan kumpulan Cucurbitaceae. Buah-buahan sayuran Solanaceae lebih sesuai dimakan dengan cara dimasak terlebih dahulu dan kebanyakannya memiliki warna-warna yang menarik seperti merah, jingga, kuning dan hijau. Kulit yang nipis menjadikan buah-buahan sayuran jenis ini perlu dijaga dengan lebih rapi (Snowdon, 1991).

Tomato (*Solanum lycopersicum*) yang juga sinonim dengan *Lycopersicon lycopersicum* atau *Lycopersicon esculentum* berasal daripada Amerika Selatan, mula tersebar secara meluas ke seluruh dunia apabila orang-orang Sepanyol memasuki Amerika. Mereka kemudiannya mula menyebarkan buah tersebut ke kawasan sekitar Caribbean diikuti dengan kawasan Asia Tenggara melalui Filipina (Smith, 1994). Selain itu orang-orang Sepanyol ini juga membawa buah ini ke benua Eropah sekitar tahun 1540, di mana suhu di kawasan Mediterranean di Eropah menjadikan ia sangat

sesuai bagi pertumbuhan buah tomato. Nama tomato berasal daripada perkataan ‘tomatl’ yang bermaksud buah yang membengkak dalam bahasa Aztec (Online Etymology Dictionary, 2010).

Kepelbagaian rasa yang terdapat pada buah tomato seperti masam dan manis serta mempunyai warna yang menarik seperti merah, kuning dan jingga menjadikan ia salah satu buahan sayuran yang digemari ramai. Pada kebiasaannya buah ini dimakan mentah-mentah seperti hidangan salad ataupun dimasak, tetapi ia juga boleh dijadikan sos dan air minuman. Kandungan lycopene yang tinggi di dalam tomato dikatakan amat baik untuk kesihatan manusia. Lycopene adalah sejenis keratin merah yang kebiasaannya terdapat dalam buah dan sayur yang berwarna merah seperti lobak merah, tembikai dan betik. Selain berperanan sebagai antioksidan yang baik untuk kulit ia juga dikatakan sebagai salah satu agen anti kanser (Mateljan, 2011).

Cili (*Capsicum annum*) yang juga berasal daripada Amerika mempunyai bentuk silinder yang meruncing, kebiasaannya berwarna merah, hijau dan kuning (Perry *et al.*, 2007). Cili ini tersebar keseluruh dunia dan digunakan sebagai bahan masakan dan juga ubat-ubatan. Antara kandungan yang terdapat di dalam cili adalah capsaicin iaitu bahan asas dalam pembuatan penyembur lada, salah satu alat pembela diri yang terkenal dikalangan wanita. Capsaicin juga merupakan agen penahan sakit yang selamat dan efektif, yang boleh mengurus kesakitan bagi penyakit arthritis, diabetik neuropati, postmastectomi dan sakit kepala. Selain capsaicin, cili juga mengandungi vitamin C dan provitamin A yang sangat tinggi (Yarbro *et al.*, 2005).

Terung (*Solanum melongena*) yang mulanya tumbuh dengan baik di kawasan beriklim temperat berasal dari India. Ia kemudiannya menjadi salah satu tanaman di sekitar Asia seterusnya ke negara-negara barat. Buah sayuran ini terdapat dalam tujuh jenis varieti di mana varieti yang berlainan akan menghasilkan buah yang berbeza saiz, bentuk dan warna. Ada yang berwarna putih dan ungu, malah ada yang berbentuk panjang, pendek malah bulat. Buah ini dimakan dengan cara dimasak dan kandungan yang terdapat dalam buah ini dikatakan mampu merawat masalah tekanan darah tinggi akibat daripada kolesterol. Ia juga direkodkan sebagai sinonim dengan *Solanum ovigerum* dan *Solanum trongum* (Hui, 2006).

2.1.3 Perusahaan Sayuran di Malaysia

Pentingnya sayur dalam kehidupan serta permintaan yang tinggi daripada penduduk Malaysia, membuatkan Malaysia mengimport sayur-sayuran sehingga RM120 juta setahun. Antara negara-negara yang menjadi pengimport adalah Indonesia, Australia, Amerika Syarikat, China, Taiwan dan India (Idris, 1990). Namun, hasil import masih tidak mencukupi bagi menampung keperluan rakyat Malaysia. Maka dengan itu, Malaysia mengambil langkah membangunkan lagi perusahaan sayuran dengan menambah keluasan tanah pertanian bagi perusahaan tersebut. Hasil daripada perusahaan sayuran bukan sahaja mampu menggunakan hasil untuk kegunaan domestik, malah mampu memasarkannya ke pasaran luar negara. Antara perbadanan atau organisasi yang terlibat dalam perusahaan ini antaranya, Kementerian Pertanian Malaysia, Jabatan Pertanian Malaysia serta Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia (MARDI).

Perusahaan sayuran di Malaysia dibahagikan kepada dua iaitu tanaman dataran tinggi seperti yang ditanam di Cameron Highland, Pahang serta Kundasang, Sabah. Kebanyakan sayuran yang memerlukan suhu yang rendah ditanam dikedua-dua kawasan dataran tinggi tersebut seperti tomato dan cili. Tanaman dataran rendah pula pada kebiasaannya diusahakan di kawasan yang kurang subur seperti bekas lombong berpasir atau pun di tanah gambut (Idris, 1990). Dilaporkan keluasan kawasan bagi penanaman sayuran di Malaysia pada tahun 2010 seluas 40,980 hektar dengan anggaran pengeluaran sebanyak 534,400 tan metrik. Negeri yang mempunyai keluasan yang terbesar adalah Johor dengan keluasan 11,880 hektar, diikuti dengan Pahang 6,540 ha, Kelantan 3,940 ha, Sarawak 3,890 ha, Sabah 2,650 ha dan Selangor 2,370 ha (Mohd Anim, 2010).

Selain daripada perusahaan sayuran secara besar-besaran, terdapat juga perusahaan yang dijalankan secara kecil-kecilan, sama ada untuk kegunaan sendiri atau pun untuk dijual di pasar-pasar. Terdapat sekitar 46,000 petani yang aktif bagi perusahaan sayuran di Malaysia sekitar tahun 2010 dan antara yang terbanyak terdapat di Kelantan, diikuti dengan Sarawak, Sabah, Johor dan Pahang. Jenis sayuran yang sering diusahakan oleh mereka adalah kangkung, cili, timun dan beberapa jenis sayuran tanah tinggi (Mohd Anim, 2011).

Sayur-sayuran menyumbang 15% pengambilan kalori rakyat Malaysia (Idris, 1990), namun tanaman jenis ini cepat mengalami kerosakan selepas dituai, di mana mutu dan tahap penerimaan pada peringkat pengguna amat dipengaruhi oleh kerosakan yang berlaku semasa proses pengendalian. Oleh itu, pemerhatian dan perlindungan yang rapi perlu diberikan pada hasil yang telah dituai bagi menjamin keperluan

pengguna (Shukor, 1999). Persekitaran ketika mengendalikan hasil lepas tuai memainkan peranan yang sangat penting, bagi mengelakkan kecederaan fisiologi yang boleh mengakibatkan kehilangan zat makanan, penurunan mutu dan kerosakan pada buahan jenis sayuran (Shukor, 1999).

2.2 Hasil Lepas Tuai

Hasil lepas tuai bermula daripada peringkat hasil tanaman dituai sehinggalah ia digunakan oleh pengguna. Peningkatan kuantiti hasil tanaman tidak bermakna meningkatnya jumlah makanan dan keuntungan, kerana hasil tuaian perlu melalui beberapa peringkat lepas tuai seperti pengangkutan, pembungkusan, pemasaran sebelum sampai kepada pengguna. Peringkat-peringkat ini boleh mendorong kepada kehilangan kuantiti dan kualiti hasil (Abdullah, 1999).

Dalam pemprosesan, hasil lepas tuai akan susut dari segi kualiti dan kuantiti, dan penyusutan ini dinamakan 'kehilangan lepas tuai' di mana ia sering merujuk kepada kehilangan kuantiti hasil. Selain itu kehilangan lepas tuai turut didefinisikan sebagai:

- Kehilangan kuantiti – kurangnya bahagian yang boleh dimakan.
- Kehilangan mutu – mutu yang menurun melalui penilaian pengguna.
- Kerugian ekonomi – kerugian akibat penurunan harga kesan daripada kehilangan kuantiti dan mutu hasil.
- Kehilangan zat makanan.
- Kehilangan daya cambah (Abdullah, 1999).

Semua kehilangan yang dinyatakan boleh menyebabkan penurunan harga hasil di pasaran seterusnya mengakibatkan kerugian. Nilai anggaran kehilangan lepas tuai

yang sering berlaku adalah antara 20 – 40%. Namun nilai kehilangan ini berbeza bergantung kepada faktor-faktor lain seperti jenis tanaman, iklim, kemudahan infrastruktur, pengetahuan, sosio-ekonomi dan pasaran (Abdullah, 1999).

Oleh itu, perhatian lebih tertumpu kepada pengendalian hasil selepas dituai kerana amalan pengendalian yang salah selepas tuai bakal mengakibatkan kerugian yang besar terutamanya kepada hasil yang melibatkan tenaga kerja, bahan dan modal yang besar untuk menanamnya (Wills *et al.*, 1989). Dengan itu, pelbagai cadangan telah dikemukakan supaya perhatian yang lebih ditumpukan pada pemuliharaan lepas tuai memandangkan cara itu lebih menguntungkan dan menjimatkan. Malah organisasi-organisasi seperti The American Society for Horticulture di Amerika dan Commission C2 (sains dan teknologi makanan) of the International Institute of Refrigeration adalah antara organisasi yang memainkan peranan dalam perkembangan teknologi hortikultur lepas tuai. Selain daripada menyelidik tentang fisiologi lepas tuai, organisasi-organisasi ini juga memainkan peranan dalam teknologi berkaitan penyimpanan dan pengendalian buah-buahan serta sayuran segar selepas dituai (Wills *et al.*, 1989).

Di Malaysia pula, organisasi yang terlibat antaranya adalah MARDI serta institusi-institusi pengajian tinggi Malaysia. Penyelidikan yang telah dilakukan oleh MARDI tentang kejuruteraan serta fisiologi lepas tuai bukan sahaja membantu pengusaha-pengusaha ladang yang besar malah turut membantu petani-petani kecil memperolehi keuntungan hasil yang lebih.

2.3 Penyakit Lepas Tuai

Penyakit lepas tuai dapat diistilahkan sebagai segala jenis gangguan atau luka yang diakibatkan oleh mikroorganisma seperti kulat dan bakteria pada hasil lepas tuai, bermula daripada penuaian sehingga hasil tersebut digunakan. Penyebab penyakit lepas tuai pula boleh dikelaskan kepada dua iaitu penyebab biotik iaitu agen penyakit daripada patogen seperti kulat dan bakteria, dan penyebab abiotik di mana faktor-faktor persekitaran boleh mempengaruhi kewujudan penyakit seperti suhu dan kadar kelembapan (Will *et al.*, 1989; Harbant, 1992).

Buahan sayuran boleh dijangkiti melalui penembusan pada dinding sel oleh patogen melalui bukaan semulajadi pada permukaan buah, kecederaan atau luka pada permukaan dan penembusan secara langsung seperti pembentukan apresorium dengan tujuan pelekatan dan rembesan enzim hidrolase atau toksin bertujuan melembikkan permukaan tisu (Harbant, 1992; Ilag *et al.*, 1994). Kebanyakan jangkitan penyakit lepas tuai berlaku melalui luka yang dialami oleh buahan sayuran sepanjang proses penuaian sehinggalah dipasarkan. Luka-luka pada permukaan buah akibat dari penggunaan mesin pemotong, cakaran dan lelasan akibat kuku penuai, mahupun penembusan oleh serangga adalah antara faktor memudahkan proses jangkitan berlaku (Wills *et al.*, 1989). Selain itu, perkembangan jangkitan dalam tempoh lepas tuai amat bergantung pada suhu dan persekitaran tempat penyimpanan (Ilag *et al.*, 1994). Pembaziran buahan sayuran akibat mikroorganisma ini menjadi lebih cepat dan lebih teruk di kawasan tropika memandangkan suhu dan kelembapan yang tinggi menggalakkan lagi pertumbuhan mikrob (Will *et al.*, 1989).

Menurut Schuman (1991), masalah penyakit pada tumbuhan kebanyakannya berpunca daripada bakteria, kulat, virus dan beberapa patogen yang lain. Secara khususnya kerugian lepas tuai pada buahan sayuran yang utama adalah disebabkan oleh beberapa genus kulat seperti *Alternaria*, *Botrytis*, *Diplodia*, *Monilia*, *Penicillium*, *Phomopsis*, *Rhizopus*, *Sclerotinia*, *Colletotrichum* dan *Fusarium*. Manakala *Erwinia* dan *Pseudomonas* merupakan bakteria yang boleh menyebabkan penyakit lepas tuai (Jadual 2.1). Patogen-patogen ini merupakan patogen yang lemah kerana hanya menyerang hasil yang telah rosak, melainkan beberapa spesies kulat seperti *Colletotrichum* dan *Botrytis cinerea* yang boleh menembusi kulit yang sihat dengan menggunakan apesorium (Will *et al.*, 1989; Harbant, 1992).

Pada tahun 1970an, melalui beberapa persidangan antarabangsa berhubung hasil makanan, para penyelidik mengusulkan bahawa jumlah makanan dapat ditingkatkan sekiranya tumpuan lebih diberikan kepada bagaimana melindungi hasil lepas tuai berbanding meningkatkan produktivi di ladang (Zaehring dan Early, 1976; Pariser, 1978). Penyakit lepas tuai bagi buahan sayuran adalah punca utama kerugian hasil. Kerugian akibat penyakit lepas tuai boleh menjadi lebih besar di mana kos pengendalian penyakit lepas tuai adalah dalam perkadaran yang lebih besar daripada kerugian di ladang kerana kos yang perlu diambil kira termasuklah kos semasa penuaian, pengangkutan dan penyimpanan hasil ladang (Swinburne, 1983; Wills *et al.*, 1998).

Jadual 2.1: Senarai jenis penyakit lepas tuai yang melibatkan buahan sayuran disebabkan oleh kulat dan bakteria (Snowdon, 1991)

Genus	Jenis Penyakit	Spesies dan perumah
<i>Alternaria</i>	Reput Alternaria	<i>Alternaria alternata</i> – terung, tomato <i>A. cucumerina</i> – petola, timun
<i>Botrytis</i>	Reput kulapuk kelabu	<i>Botrytis cinerea</i> – cili, labu, petola, terung, timun, tomato
<i>Diplodia</i>	Reput Diplodia	<i>Botryodiplodia theobromae</i> – cili, labu, petola, terung, timun, tomato
<i>Penicillium</i>	Reput kulapuk biru	<i>Penicillium cyclopium</i> – tomato <i>P. italicum</i> – timun
<i>Phomopsis</i>	Reput hitam	<i>Phomopsis cucurbitae</i> – timun <i>P. vexans</i> – terung
<i>Rhizopus</i>	Reput Rhizopus	<i>Rhizopus oryzae</i> – cili, terung, tomato
<i>Sclerotinia</i>	Reput lembut berair	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> – terung, labu
<i>Colletotrichum</i>	Antraknos	<i>Colletotrichum capsici</i> – cili <i>C. coccodes</i> – terung, tomato
<i>Fusarium</i>	Reput Fusarium	<i>Fusarium avenaceum</i> – tomato <i>F. oxysporum</i> – cili, timun, terung
<i>Erwinia</i>	Reput lembut bakteria	<i>Erwinia herbicola</i> – tomato
<i>Pseudomonas</i>	Reput lembut bakteria	<i>Pseudomonas viridiflava</i> – tomato

2.3.1 Jangkitan Pendam pada Buah Sayuran

Penyakit lepas tuai biasanya berlaku selepas hasil dituai, namun ini tidak bermakna patogen tersebut hanya berada pada perumah selepas dituai. Terdapat juga patogen yang telah pun berada di dalam perumah sebelum dituai, cuma simptom atau jangkitan masih belum kelihatan. Menurut Bautista-Banos *et al.* (2001), petani sering memaklumkan bahawa kebanyakan buah sayuran tidak menunjukkan sebarang simptom penyakit apabila telah masak, tetapi hanya mengalami kerosakan atau pereputan apabila tiba di tangan pengguna. Situasi tersebut dikenali sebagai jangkitan pendam.

Antara ciri utama penyakit lepas tuai, adalah penyakit ini bermula daripada ketibaan inokulum, diikuti dengan perkembangan penyakit, tetapi pertumbuhan patogen ditahan. Penahanan jangkitan ini juga dikenali sebagai jangkitan pendam di mana Verhoeff (1974) mendefinisikan jangkitan pendam sebagai parasit yang diam (tidur), yang kemudiannya selepas beberapa ketika bertukar menjadi aktif. Terdapat banyak pendapat dalam mendefinisikan jangkitan pendam di mana ada juga yang menggantikan perkataan pendam kepada 'quiescent' (diam) bagi mengelakkan kekeliruan. Penggunaan istilah jangkitan diam pada asalnya digunakan oleh Jenkis dan Reinganum (1965) bagi menggantikan jangkitan pendam.

Agrios (2005) menyebut proses jangkitan terdiri empat peringkat iaitu inokulasi, pra-penembusan, penembusan dan jangkitan. Semua peringkat ini termasuklah permulaan percambahan, pemanjangan tiub germa, pembentukan apresoria, penembusan dan pembentukan koloni. Tempoh diam ini boleh berlaku kepada patogen dalam mana-mana peringkat tersebut, termasuklah permulaan percambahan.

Oleh itu, penggunaan istilah jangkitan diam digunakan bagi memasukkan sekali beberapa contoh di mana inokulum kekal tanpa ada pertumbuhan. Jangkitan diam dalam konteks penyakit lepas tuai melibatkan penghambatan perkembangan patogen melalui keadaan fisiologi yang dipaksa oleh perumah sehingga tahap kematangan dicapai (Swinburne, 1983).

Peladang dan penjual sebolehnya hendak membuang hasil yang reput dan menunjukkan simptom penyakit sebelum dipasarkan, namun kebanyakan hasil hanya menunjukkan simptom selepas dituai (Swinburne, 1983). Keadaan ini merugikan dan merumitkan mereka, kerana mereka tidak dapat menjangkakan bila adanya inokulum pada hasil kerana tiada masa yang tetap mengenai masa jangkitan serta penghasilan simptom. Kelewatan di antara jangkitan dan penghasilan simptom bagi penyakit ini boleh mengambil masa yang panjang, contohnya jangkitan oleh *Colletotrichum acutatum* kadang kala mengambil masa lebih daripada satu bulan (Phillip dan Javier, 2004).

2.4 Kepatogenan

Kepatogenan merupakan darjah atau kebolehan patogen untuk menyebabkan penyakit, atau kebolehan parasit untuk menceroboh dan seterusnya menyebabkan perkembangan penyakit di dalam perumah (Agrios, 2005). Manakala kevirulenan pula adalah darjah kerosakan terhadap perumah oleh parasit. Patogen menggunakan faktor virulen bagi mengatasi sistem pertahanan perumah bagi membolehkan jangkitan berlaku. Darjah kepatogenan pula dapat menentukan kerugian hasil dan jumlah kerugian hasil adalah berbeza-beza mengikut jenis perumah, patogen, tempat,

persekitaran, suhu dan kombinasi semua faktor tersebut (Agrios, 2005). Oleh itu, agen penyebab penyakit dan darjah kepatogenan dapat ditentukan dengan menjalankan ujian kepatogenan.

2.4.1 Postulat Koch

Teknik Postulat Koch diperkenalkan oleh Robert Koch pada tahun 1887, dengan menyatakan empat kriteria yang wajib diikuti bagi menjayakan teknik tersebut iaitu:

- a) Mikroorganisma yang disyaki penyebab kepada penyakit, mesti hadir pada setiap perumah yang dijangkiti.
- b) Patogen yang disyaki hendaklah dipencilkan daripada perumah yang dijangkiti kepada medium agar.
- c) Kultur tulen patogen yang disyaki diinokulat kepada perumah yang sihat tanpa penyakit, dan perumah tersebut hendaklah menghasilkan penyakit dengan menunjukkan simptom yang sama.
- d) Patogen yang sama juga mestilah diperolehi dari hasil pemencilan daripada eksperimen tersebut dan ia mempunyai ciri-ciri yang sama seperti patogen dalam langkah (b).

Pendekatan Postulat Koch yang digunakan dapat membuktikan sama ada sesuatu organisma adalah patogenik atau tidak terhadap perumah (Koch, 1887). Namun pendekatan ini hanya bersesuaian kepada sesetengah organisma seperti kulat, bakteria, parasit tumbuhan peringkat tinggi, nematod, kebanyakan virus dan viroid serta spiroplasma. Walaubagaimanapun, teknik ini tidak dapat digunakan bagi sesetengah virus, fitoplasma, bakteria yang menghuni floem secara memilih,

protozoa dan parasit tumbuhan seperti kulapuk berdebu, kulapuk downi dan kulat karah disebabkan cara pengkulturan dan penulinan bagi patogen tersebut masih belum ditemui (Agrios, 2005).

2.5 Kulat *Fusarium*

Kulat dari genus *Fusarium* mula diperkenalkan oleh Link (1809) berasaskan *F. roseum* yang menghasilkan konidia fusiform dan spora tidak berseptum terhasil dalam stroma (Booth, 1971). Menurut Singleton dan Sainsbury (2001) pula, *Fusarium* adalah genus yang menghasilkan miselium berseptum dan makrokonidia daripada fialid yang sering terdapat pada sporodokia. Genus ini mempunyai keunikan tersendiri dalam daya tahan hidup, antaranya mampu beradaptasi dengan cepat secara morfologi mahupun fisiologi apabila berhadapan dengan perubahan persekitaran (Booth, 1971).

Pengelasan terkini genus *Fusarium* boleh dirujuk kepada laman sesawang National Center for Biotechnology Information (NCBI) (2010) seperti yang berikut:

Alam: Kulat

Subalam: Dikarya

Filum: Ascomycota

Subfilum: Pezizomycotina

Kelas: Sordariomycetes

Subkelas: Hypocreomycetidae

Order: Hypocreales

Genus: *Fusarium*

Fusarium merupakan kulat tularan tanah, namun ia juga boleh didapati di udara, pada sisa tumbuhan, dan pada setiap bahagian tumbuhan daripada akar hinggalah ke bunga (Summerell *et al.*, 2003). *Fusarium* hidup dalam bentuk saprofit, endofit dan juga patogen yang mengakibatkan beberapa jenis penyakit kepada banyak varieti tumbuhan di seluruh dunia (Appel dan Gordon, 1995).

Penyakit utama disebabkan oleh *Fusarium* adalah reput akar dan reput tangkai, hawar pangkal dan biji benih, serta penyakit layu vaskular (Nelson *et al.*, 1981; Summerell *et al.*, 2001). Reput akar terjadi kesan daripada jangkitan oleh *F. acuminatum* pada labu (Elmer, 1996) dan gandum (Mergoum, 1998), selain *F. acuminatum*, *F. nygamai* dan *F. oxysporum* turut direkodkan sebagai penyebab reput akar (Trimboli dan Burgess, 1985). Penyakit layu vaskular pula terjadi pada tumbuhan apabila saluran xilem tersumbat hasil daripada sistem pertahanan perumah melawan patogen. Pada kebiasaannya penyakit layu vaskular ini disebabkan oleh *F. oxysporum* yang sering menjangkiti pokok pisang (Shi *et al.*, 1992). Selain daripada penyakit di atas, spesies *Fusarium* turut menyebabkan penyakit kepada beberapa tumbuhan yang lain, seperti malformasi pada mangga (Ploetz, 2001) penyakit bakanae pada padi (Summerell *et al.*, 2003) juga Pokkah boeng pada tebu (Ploetz, 2006).

Spesies *Fusarium* telah dilaporkan menyerang buah-buahan jenis sayuran, sama ada yang belum dituai mahupun selepas dituai. Beberapa spesies *Fusarium* telah berjaya dipencilkan daripada tomato contohnya *F. equiseti* di Mesir (Adisa dan Lekunze, 1986) dan *F. solani* daripada bendi (Esuruoso *et al.*, 1975). Penyakit akibat *Fusarium* pada buah seperti reput buah pula telah direkodkan daripada labu, tomato dan terung

(Snowdon, 1991). Selain daripada buah-buahan sayuran, spesies *Fusarium* juga turut menyebabkan penyakit kepada tanaman sayuran seperti penyakit layu Fusarium pada tembikai, timun, dan tomato (Snowdon, 1991; Larkin dan Fravel, 2002).

Penyakit disebabkan oleh *Fusarium* telah mengakibatkan kerosakan dan kerugian yang melibatkan jutaan ringgit, di mana kebanyakan kerugian ini berlaku akibat dari kerugian secara langsung kepada petani dan juga akibat daripada pengeluaran mikotoksin yang mencemari bahan simpanan dan makanan ternakan sebelum dipasarkan (Nelson *et al.*, 1981; Summerell *et al.*, 2001).

Selain tumbuhan, terdapat juga spesies *Fusarium* yang turut membahayakan haiwan dan manusia apabila makanan yang tercemar memasuki rantai makanan. *Fusarium* menghasilkan beberapa jenis mikotoksin seperti fumonisins (FUM), zearalenone (ZEN), moniliformin (MON), beauvericin (BEA) dan trichothecenes, di mana toksin ini kebiasaannya didapati pada bijirin, bahan makanan dan makanan ternakan (Placinta *et al.*, 1999; Logrieco *et al.*, 2002). Mikotoksin ini boleh mengakibatkan jangkitan kepada manusia dan haiwan, terutama yang berkeimunan rendah dan ia juga boleh mengakibatkan kematian (Rebell, 1981). Telah direkodkan mikotoksin telah menyebabkan jangkitan pada kulit manusia yang dikesan di sekitar tahun 1970an daripada pesakit kanak-kanak leukimia (Martino *et al.*, 1994), serta ia juga boleh mengakibatkan kanser contohnya kanser eosofagus (Marasas, 1995). Manakala pada haiwan pula, mikotoksin mengakibatkan pengurangan vitamin A pada anak ayam (Hall *et al.*, 1995) dan kesan 'immunodepressive' pada ayam Turki (Li *et al.*, 2000).

2.5.1 Sejarah Taksonomi *Fusarium*

Wollenweber dan Reinking (1935) telah meringkaskan sistem pengelasan *Fusarium* dengan membahagikan genus *Fusarium* kepada 16 seksyen, 65 spesies dan 77 sub-variati. Antara seksyen yang telah diperkenalkan adalah Eupionnotes, Macroconia, Lateritium, Liseola, Arachnites, Elegans, Spicarioides, Discolor, Gibbosum, Roseum, Arthrosporiella, Martiella, Ventricosum, Sporotrichiella, Submicrocera dan Pseudomicrocera. Kebanyakan seksyen dan spesies tersebut masih diterima pakai sehingga hari ini, walaupun diakui spesies daripada satu seksyen mungkin tidak monofiletik (O'Donnell *et al.*, 1998b dan Kistler, 2001). Kelemahan utama sistem ini adalah ia menggunakan pelbagai jenis media yang berbeza dan ini melambatkan proses mengenalpasti spesies. Selain itu, cara ini juga lebih banyak merujuk kepada perbezaan di antara spesies berbanding persamaan (Leslie dan Summerell, 2006).

Pada tahun 1940an dan 1950an, Snyder dan Hansen (Leslie dan Summerell, 2006) telah mengurangkan bilangan spesies *Fusarium* kepada sembilan iaitu *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. roseum*, *F. lateritium*, *F. tricinctum*, *F. nivale*, *F. rigidiuscula*, dan *F. episphaeria*. Konsep spesies yang digunakan sangat mudah diterapkan kerana setiap pencilkan boleh dikenalpasti dengan mudah. Sehingga kini ciri-ciri morfologi untuk mengenalpasti *F. solani* dan *F. oxysporum* masih digunakan (Snyder dan Hansen, 1954; Leslie dan Summerell, 2006).

Gordon penyelidik daripada Kanada yang memulakan kajian dari awal 1930an hingga 1960an telah membuat pemerhatian terhadap spesies *Fusarium* yang dipencilkan daripada pelbagai jenis substrat dan persekitaran seperti bijirin, pelbagai jenis tumbuhan serta tanah daripada kawasan tropika dan temperat (Leslie dan

Summerell, 2006). Beliau telah mengembangkan taksonomi *Fusarium* berdasarkan falsafah Wollenweber dan Reinking (1935) dan beberapa komponen Snyder dan Hansen (1954) serta mengambil pertimbangan tentang peringkat teleomorf.

Raillo adalah antara saintis yang menggunakan kaedah kultur spora tunggal dalam mengenalpasti spesies *Fusarium*. Beliau telah menerbitkan sistem taksonomi *Fusarium* pada pertengahan 1930an di mana sistem tersebut berdasarkan bentuk makrokonidia, kehadiran mikrokonidia dan klamidospora (Leslie dan Summerell, 2006). Namun hasil kerja beliau yang diterbitkan tidak lengkap sepenuhnya menyebabkan sistem taksonomi Raillo kurang diiktiraf oleh penyelidik di Barat (Leslie dan Summerell, 2006).

Bilai merupakan salah seorang penyelidik yang terawal membuat pemerhatian terhadap variasi kultur dan ciri-ciri fisiologi spesies *Fusarium* terutamanya tindak balas kultur terhadap suhu, kelembapan dan jenis media (Leslie dan Summerell, 2006). Dari pengamatan Bilai, variasi pada beberapa ciri bagi beberapa spesies *Fusarium* adalah setara dengan apa yang diamati dalam keseluruhan seksyen genus tersebut. Beliau juga menghasilkan sistem pengelasan taksonomi genus *Fusarium* serta mencadangkan penggabungan seksyen iaitu seksyen *Liseola* digabungkan dengan *Elegans*, manakala *Gibbosum* dengan *Discolor*, namun gabungan ini dikritik oleh Nelson *et al.* (1983).

Matuo (1972) menghasilkan satu sistem taksonomi yang menyerupai Snyder dan Hansen (1954), tetapi mempunyai tambahan spesies iaitu *F. splendens*. Spesies ini dikatakan peringkat anamorf bagi *Hypocrea splendens*. Namun dari hasil kajian

berikutnya beliau kemudian menyatakan spesies ini berkemungkinan *Nectria* iaitu sejenis hiperparasit. Sistem beliau hampir menyerupai sistem Snyder dan Hansen kerana adanya penggabungan bagi spesies *Fusarium* contohnya *F. lateritium* dan *F. roseum*.

'The Genus *Fusarium*' ditulis oleh Booth (1971), di mana beliau menyertakan kekunci kepada seksyen dan spesies *Fusarium*. Sistem taksonomi oleh Booth (1971) kebanyakannya diadaptasi daripada Wollenweber dan Reinking (1935). Dalam sistem taksonomi tersebut, Booth memperkenalkan sel konidiogenus, yang menghasilkan mikrokonidia sebagai salah satu peringkat dalam mengenalpasti spesies. Ciri sel konidiogenus tersebut masih digunakan sehingga kini terutamanya untuk mengenalpasti spesies dari seksyen *Liseola* dan *Sporotrichiella*.

Gerlach dan Nirenberg (1982) pula meneruskan penyelidikan mereka berdasarkan sistem taksonomi Wollenweber dan Reinking (1935) dan hasil kerja mereka diterbitkan dalam buku yang bertajuk *Die Fusarien*. Namun Nelson *et al.* (1983) mengkritik hasil kajian mereka kerana penggunaan bilangan pencilan yang sedikit untuk mengenalpasti spesies, serta cuba membezakan spesies berdasarkan julat ciri morfologi yang kecil.

Nelson *et al.* (1983) telah menerbitkan satu manual yang bertajuk '*Fusarium* spesies: An Illustrated Manual for Identification' yang merangkumi segala maklumat berguna berkenaan pencilan, penyediaan media dan pengkulturan pencilan-pencilan *Fusarium*. Selain mempunyai gambar berwarna bagi membezakan variasi pigmentasi, ia juga memiliki gambar-gambar mikroskopik ciri-ciri morfologi seperti