UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA

KAJIAN INTERAKSI BIOMOLEKUL KOKO (*THEOBROMA CACAO* L.) TERHADAP JANGKITAN PENYAKIT BUAH HITAM YANG DISEBABKAN OLEH KULAT *PHYTOPHTHORA* SP.

NORHAYATI BT. YUSUF

FSAS 2000 34

KAJIAN INTERAKSI BIOMOLEKUL KOKO (*THEOBROMA CACAO* L.) TERHADAP JANGKITAN PENYAKIT BUAH HITAM YANG DISEBABKAN OLEH KULAT *PHYTOPHTHORA* SP.

Oleh

NORHAYATI BT. YUSUF

Tesis ini Disediakan bagi Memenuhi Keperluan untuk Ijazah Master Sains di Fakulti Sains dan Pengajian Alam Sekitar Universiti Putra Malaysia

Ogos 2000

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Putra Malaysia sebagai memenuhi syarat untuk mendapat ijazah Master Sains.

KAJIAN INTERAKSI BIOMOLEKUL KOKO (*THEOBROMA CACAO* L.) TERHADAP JANGKITAN PENYAKIT BUAH HITAM YANG DISEBABKAN OLEH KULAT *PHYTOPHTHORA* SP.

Oleh

NORHAYATI YUSUF

Ogos 2000

Pengerusi : Nor' Aini Mohd. Fadzillah, PhD.

Fakulti : Sains dan Pengajian Alam Sekitar.

Kajian telah dijalankan untuk melihat perubahan sistem pertahanan antioksidan tumbuhan koko (*Theobroma cacao* L.) hasil interaksi dengan *Phytophthora* sp. iaitu kulat yang menyebabkan penyakit buah hitam. Dua klon koko yang digunakan ialah ICS 95, satu klon yang rintang dan MJS 47, satu klon yang rentan kepada penyakit buah hitam.

Phytophthora sp. telah diasingkan daripada pod koko yang menunjukkan gejala-gejala penyakit buah hitam. Pertumbuhan miselium kulat adalah lebih baik di atas medium agar tidak menentu berbanding dengan medium agar menentu, manakala medium Richard's berupaya menyokong pertumbuhan yang lebih baik berbanding dengan medium cecair yang lain. Nilai pH filtrat kultur kulat (FKK) berada dalam julat 4.0 hingga 8.5 unit.

Biocerakin kesitotoksikan FKK kasar *Phytophthora* sp. ke atas ceper daun koko menunjukkan peratus nekrosis semakin meningkat (lebih 50%) dengan peningkatan umur FKK yang digunakan terutamanya menggunakan FKK berumur 12-24 hari pengeraman. Peratus nekrosis juga lebih tinggi dalam klon MJS 47 berbanding ICS 95. Sebaliknya, kandungan klorofil akan terus berkurangan dengan meningkatnya umur FKK yang digunakan. FKK juga dapat merencat pertumbuhan biji benih *Brassica chinensis* terutamanya menggunakan FKK berumur 12-24 hari pengeraman. Kesan kesitotoksikan adalah lebih ketara menggunakan FKK yang disediakan dari medium ekstrak ubi kentang-dekstrosa (PD) berbanding dengan medium Murashige & Skoog (MS).

Paras malondialdehid adalah lebih tinggi dalam klon MJS 47 berbanding klon ICS 95 terutamanya selepas 16 hari rawatan dengan FKK. Begitu juga dengan penghasilan hidrogen peroksida selepas 11 hari rawatan.

Aktiviti spesifik enzim peroksidase (POD) dan polifenol oksidase (PPO) pada mulanya adalah lebih tinggi dalam klon MJS 47 berbanding klon ICS 95 terutamanya pada tempoh rawatan 0 hingga 4 hari dan semakin berkurangan selepas 4 hari rawatan dengan FKK. Aktiviti spesifik enzim glutathion reduktase (GR) pula lebih tinggi dalam klon ICS 95 (selepas 7 hari rawatan) berbanding dengan klon MJS 47. Begitu juga dengan aktiviti spesifik enzim katalase (KAT) yang lebih tinggi dalam klon ICS 95 selepas

2 hingga 7 hari rawatan. Rawatan dengan FKK *Phytophthora* sp. menyebabkan berlakunya peningkatan aktiviti spesifik enzim kajian berbanding dengan kawalan yang digunakan bagi kedua-dua klon ICS 95 dan MJS 47.

Kandungan askorbat dan α-tokoferol adalah lebih tinggi dalam klon ICS 95 berbanding klon MJS 47 terutamanya pada hari ke 2 hingga 11 bagi asid askorbik dan hari 0 hingga 16 bagi α-tokoferol selepas rawatan dengan FKK. Kandungan molekul glutathion bentuk teroksida (GSSG) dan terturun (GSH) selepas rawatan dengan FKK adalah lebih tinggi dalam klon yang rintang berbanding dengan klon yang rentan. Pada amnya, paras GSH adalah lebih tinggi daripada GSSG dalam kesemua kajian yang dijalankan. Nisbah GSH:GSSG adalah lebih tinggi dalam klon yang rintang terutamanya pada hari 0, 1 dan 11 hari rawatan.

Kesemua keputusan yang diperolehi menunjukkan bahawa FKK kasar *Phytophthora* sp. mungkin mengandungi sebatian toksik yang boleh merencat pertumbuhan tumbuhan dan meransang perubahan aktiviti spesifik enzim dan paras molekul antioksidan sebagai suatu mekanisme tindakbalas pertahanan tumbuhan terhadap jangkitan patogen. Jangkitan oleh *Phytophthora* sp. dengan itu berupaya menyebabkan keadaan tegasan oksidatif dalam tisu daun koko.

Abstract of thesis presented to the Senate of University Putra Malaysia in fulfilment of the requirement for the degree of Master of Science.

BIOMOLECULAR RESPONSES OF COCOA (*THEOBROMA CACAO* L.) AGAINST BLACK POD DISEASE CAUSED BY *PHYTOPHTHORA* SP.

By

NORHAYATI YUSUF

August 2000

Chairman : Nor'Aini Mohd. Fadzillah, PhD.

Faculty : Science and Environmental Studies.

This study investigated the changes in the antioxidant defense systems of cocoa (*Theobroma cacao* L.) in response to black pod disease as induced by *Phytophthora* sp.. Two cocoa clones were used namely ICS 95, a resistant clone and MJS 47, a susceptible clone to black pod disease.

The fungal pathogen *Phytophthora* sp. was isolated from cocoa pods showing symptoms of black pod disease. Growth of the fungal mycelium was optimal on undefined medium compared to that on defined medium. Meanwhile, Richard's medium was the best liquid medium for growth and development of this pathogen compared to the other media used. pH values of the culture filtrates (CFs) were in the range of 4.0 to 8.5.

Cytotoxicity bioassays using crude CFs of *Phytophthora* sp. on cocoa leaf discs showed that the percentage of necrosis was increasingly higher (by

more than 50%) with older CFs especially using 12-24 days old CFs. Necrosis in leaf tissues of MJS 47 was also higher compared to that in ICS 95. Meanwhile, chlorophyll content decreased with older CFs. In bioassays using *Brassica chinensis* seeds, growth of the seeds were inhibited by 12-24 days old CFs. The CFs obtained from potato dextrose (PD) medium showed higher cytotoxic effects compared to CFs prepared from Murashige & Skoog (MS) medium.

The malondialdehyde levels were higher in MJS 47 compared to ICS 95 after 16 days of treatment with CFs. Hydrogen peroxide concentrations also showed similar results after 11 days.

Specific activities of peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) were initially higher in MJS 47 compared to ICS 95 especially at 0-4 days of treatment which decreased after 4 days. Glutathione reductase (GR) specific activities were higher in treated ICS 95 after 7 days compared to that in MJS 47 clone. Similar results were observed for catalase (CAT) specific activities after 2-7 days of treatment. In response to the treatment with CFs of *Phytophthora* sp. specific activities of the enzymes studied were higher in both clones compared to its respective controls.

Ascorbate and α-tocopherol content were higher in ICS 95 compared to the MJS 47 clone especially after 2 to 11 days of treatment for the former

and 0-16 days of treatment for the latter. Concentrations of both oxidized glutathione (GSSG) and reduced glutathione (GSH) were higher in the ICS 95 clone as compared to MJS 47 clone. Generally, GSH levels were higher compared to GSSG in all the treatments. Ratio of GSH:GSSG was also higher in the resistant clone especially at day 0, 1 and 11 of treatments with CFs.

Results obtained thus indicate that crude CFs of *Phytophthora* sp. may contain toxic compounds that can inhibit plant growth and development. These growth inhibitory substances were also able to induce changes in the specific activities of antioxidant enzymes as well as concentration of the endogenous antioxidants as a response in the plant defense system against pathogen infection. The infection of *Phytophthora* sp. was thus shown to be able to induce conditions of oxidative stress in the leaf tissues of cocoa.

PENGHARGAAN

DENGAN NAMA ALLAH YANG MAHA PENGASIH LAGI MAHA PENYAYANG

Selawat dan Salam Ke Atas Junjungan Besar Nabi Muhammad S.A.W.

Sekalung ucapan terima kasih yang tidak terhingga ditujukan khas buat Dr. Nor'Aini Mohd. Fadzillah selaku ketua penyelia projek di atas segala tunjuk ajar, nasihat, teguran dan bimbingan yang telah diberikan.

Setinggi-tinggi penghargaan juga dirakamkan buat Prof. Madya Dr. Radzali Muse dan Dr. Misri Kusnan di atas segala bantuan dan tunjuk ajar sepanjang projek ini dijalankan.

Tidak lupa juga buat ahli-ahli makmal Kultur Tisu, Jabatan Biologi dan makmal 230, Jabatan Biokimia dan Mikrobiologi yang turut memberi sokongan dan juga bantuan.

Akhir kata buat suami tercinta, Azman Jali, anak tersayang, Mohd. Akmal, Mohd. Amirul Hakim, kedua ibu bapa dan adik-adik, terima kasih di atas segala sokongan dan pengorbanan yang telah diberikan.

Terima Kasih.

JADUAL KANDUNGAN

		Mukasurat
	ABSTRAK	ii
	ABSTRACT	v
	PENGHARGAAN	viii
	PENGESAHAN PEMERIKSA	ix
	AKUAN PELAJAR	xi
	JADUAL KANDUNGAN	xii
	SENARAI RAJAH	xvi
	SENARAI PLAT	xix
	SENARAI SINGKATAN	xxii
BAB		
I	PENGENALAN	1
	Objektif kajian	8
II	ULASAN LITERATUR	9
	Koko Secara Am	9
	Ciri-ciri Botani Tanaman Koko	11
	Status Penanaman Koko di Malaysia	12
	Sejarah Penanaman Koko	12
	Keluasan Tanaman Koko	13
	Masalah Penanaman Koko di Malaysia	16
	Penyakit Buah Hitam	19
	Organisma yang Menyebabkan Penyakit Buah Hitam	19
	Kitaran Hidup Kulat *Phytophthora palmivora*	20
	Gejala-gejala Serangan Penyakit Buah Hitam	23
	Punca-Punca Jangkitan Kulat *Phytophthora* sp	23
	Kepentingan Ekonomi	27
	Langkah-Langkah Kawalan Penyakit	28
	Amalan Tani	28
	Kawalan Kimia	29
	Kerintangan Kultivar	30
	Tegasan Oksidatif dalam Tumbuhan	30
	Penghasilan Spesies Oksigen Reaktif dalam Tumbuhan	31
	Tindakbalas Berangkai Peroksidaan Lipid pada Membran	35
	Mekanisme Pertahanan Tumbuhan	38
	Sistem Pertahanan enzim	41
	Sistem Bukan Enzim	43

Kewujudan Spesies Oksigen Reaktif Dalam Mekanisme Pertahanan Tumbuhan Terhadap Patogen..... 47
Mekanisme yang Mengawal Penghasilan Spesies Oksigen yang Reaktif Semasa Jangkitan Patogen..... 49
Keberkesanan Spesies Oksigen Reaktif Sebagai Rintangan Terhadap Jangkitan Patogen..... 52

III BAHAN DAN KAEDAH..... 57
Senarai Bahan 57
Sumber Bahan Kajian..... 58
Penyemaian Anak Pokok 58
Kajian Awal Patogen..... 59
Sumber Inokulum..... 59
Proses Pensterilan Permukaan Pod..... 59
Permulaan Kultur *Phytophthora* sp..... 62
Pemeliharaan Kultur Kulat..... 63
Kajian Pertumbuhan dan Perkembangan Patogen Kulat..... 63
Kajian Pertumbuhan pada Medium Pepejal..... 64
Kajian Pertumbuhan pada Medium Cecair..... 64
Penyediaan Medium Kultur Kulat..... 65
Medium Tidak Menentu..... 65
Medium Ubi Kentang-Dekstrosa Beragar (PDA)..... 65
Medium Jus Sayuran V8-$CaC0_3$ Beragar (V8J/$CaC0_3$)..... 66
Medium Lobak Merah Beragar (CA)..... 66
Medium Ekstrak Kacang Peas Beragar (PEA)..... 66
Medium Oatmeal Beragar (OMA)..... 67
Medium Ekstrak Malt Beragar (MEA)..... 67
Medium Menentu..... 67
Medium Murashige & Skoog Beragar (MSA)..... 67
Medium Czapex-Dox Beragar (CDA)..... 68
Medium Richard's Beragar (RA)..... 68
Biocerakin Filtrat Kultur *Phytphthora* sp..... 69
Penyediaan Filtrat Kultur Kulat *Phytphthora* sp..... 69
Proses Pensterilan Permukaan Daun Koko..... 69
Kaedah Biocerakin Menggunakan Ceper Daun Koko..... 70
Penentuan Nekrosis Ceper Daun..... 71
Penentuan Kandungan Klorofil..... 71
Pensterilan Permukaan Biji Benih Sawi..... 72
Biocerakin Biji Benih Sawi *Brassica chinensis*..... 73
Kajian Interaksi Biomolekul Daun Koko Dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp..... 73
Penentuan Paras Hidrogen Peroksida..... 75
Penentuan Kadar Peroksidaan Lipid..... 76
Cerakinan Aktiviti Spesifik Enzim..... 77
Aktiviti Spesifik Enzim Peroksidase..... 77

Aktiviti Spesifik Enzim Polifenol Oksidase..... 79
Aktiviti Spesifik Enzim Katalase..... 80
Aktiviti Spesifik Enzim Glutathion Reduktase..... 81
Penentuan Kandungan Protein..... 82
Penyediaan Keluk Piawai Protein..... 82
Penentuan Kandungan Protein Ekstrak Kasar..... 83
Penentuan Kandungan Molekul Antioksidan..... 83
Penentuan Kandungan Asid Askorbik (Vitamin C)..... 83
Penentuan Kandungan α-Tokoferol (Vitamin E)..... 84
Penentuan Kandungan Molekul Glutathion..... 86
Penentuan Kandungan Jumlah Glutathion, Glutathion dalam Bentuk Teroksida (GSSG) dan Glutathion dalam Bentuk Terturun (GSH)..... 86
Analisis Statistik..... 88

IV KEPUTUSAN..... 89
Kajian Pertumbuhan dan Perkembangan Patogen Kulat *Phytophthora* sp..... 89
Kajian Pertumbuhan bagi Medium Pepejal..... 89
Kajian Pertumbuhan bagi Medium Cecair..... 95
Nilai pH Filtrat Kultur..... 106
Biocerakin Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp..... 108
Peratus Nekrosis Ceper Daun..... 109
Kandungan Klorofil Ceper Daun..... 114
Pertumbuhan Biji Benih *Brassica chinensis*..... 117
Pertumbuhan Hipokotil dan Radikal Biji Benih *Brassica chinensis*..... 119
Interaksi Ceper Daun Koko dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp..... 124
Paras Hidrogen Peroksida pada Ceper Daun..... 128
Peroksidaan Lipid pada Membran..... 131
Aktiviti Spesifik Enzim Antioksidan..... 134
Aktiviti Spesifik Enzim Peroksidase (POD)..... 134
Aktiviti Spesifik Enzim Polifenol Oksidase (PPO)..... 136
Aktiviti Spesifik Enzim Katalase (KAT)..... 138
Aktiviti Spesifik Enzim Glutathion Reduktase (GR)..... 140
Kandungan Molekul Antioksidan Di Dalam Daun Koko Selepas Interaksi dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp..... 143
Kandungan Asid Askorbik (Vitamin C)..... 143
Kandungan α-Tokoferol (Vitamin E)..... 145
Kandungan Molekul Glutathion..... 147

V	PERBINCANGAN.....	153
	Kultur Tulen *Phytophthora* sp.....	153
	Pertumbuhan Dan Perkembangan Patogen Kulat *Phytophthora* sp. di dalam Medium Agar Pepejal dan Medium Cecair.....	154
	Aktiviti Kesitotoksikan Filtrat Kasar Kultur Kulat *Phytophthora* sp.....	161
	Kesan Interaksi Filtrat Kasar Kultur Kulat *Phytophthora* sp. dengan Ceper Daun Koko.....	168
	Perubahan Aktiviti Beberapa Enzim Antioksidan Hasil Ineraksi Ceper Daun Koko Dengan Filtrat Kasar Kultur Kulat *Phytophthora* sp.....	174
VI	RINGKASAN DAN KESIMPULAN.....	186
RUJUKAN	.....	191
LAMPIRAN	.....	219
BIOGRAFI	.....	226

SENARAI RAJAH

RAJAH		Mukasurat
1	Carta Pengeluaran Biji Koko Kering Di Malaysia.....	18
2	Kitaran Hidup Kulat *P. palmivora*	20
3	Punca-Punca Jangkitan Kulat *Phytophthora* sp.....	26
4	Skema Penurunan Elektron dalam Penghasilan Spesies Oksigen Reaktif.....	32
5	Tindakbalas Berangkai Peroksidaan Lipid pada Membran	37
6	Kerosakan yang Disebabkan oleh Spesies Oksigen yang Reaktif.....	40
7	Tapak Jalan Halliwell-Asada.....	43
8	Kitaran Glutathion Askorbat.....	44
9	Kaitan antara Sistem Antioksidan.....	46
10	Mekanisme yang Mengawal Penghasilan Radikal Superoksida dalam Sistem yang Dijangkiti oleh Patogen.	51
11	Pertumbuhan Garispusat Koloni *Phytophthora* sp. Selama 5 Hari Pengeraman pada 27 ± 2 °C di atas a) Medium Agar Tidak Menentu b) Medium Agar Menentu.....	91
12	Berat Kering Kulat *Phytophthora* sp. (g/kultur) Selama 24 Hari Pengeraman pada Suhu 27 ± 2 °C dengan Kelajuan 100 psm di dalam a) Medium Cecair Tidak Menentu b) Medium Cecair Menentu.....	99
13	Nilai pH Filtrat Kasar Kultur Kulat *Phytophthora* sp. Selama 24 Hari Pengeraman pada Suhu 27 ± 2 °C dengan Kelajuan 100 psm di dalam a) Medium Tidak Menentu b) Medium Menentu.....	107
14	Peratus Nekrosis Ceper Daun Koko Klon ICS 95 dan Juga MJS 47 Selepas 6 Hari Pendedahan dalam Keadaan Gelap dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora*	

	sp. yang Disediakan dari a) Medium Cecair Ubi Kentang-Dekstrosa b) Medium Cecair Murashige dan Skoog.....	110
15	Peratus Kandungan Klorofil Ceper Daun Koko Klon ICS 95 dan Juga MJS 47 Selepas 6 Hari Pendedahan dalam Keadaan Gelap dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp. yang Disediakan dari a) Medium Cecair Ubi Kentang-Dekstrosa b) Medium Cecair Murashige Dan Skoog.....	116
16	Peratus Percambahan Biji Benih *B. Chinensis* Selepas 5 Hari Pendedahan dalam Keadaan Gelap dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp. yang Disediakan dari a) Medium Cecair Ubi Kentang-Dekstrosa b) Medium Cecair Murashige dan Skoog.....	118
17	Pertumbuhan Hipokotil dan Radikal Biji Benih *B. Chinensis* (cm) Selepas 5 Hari Pendedahan dalam Keadaan Gelap dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp. yang Disediakan dari a) Medium Cecair Ubi Kentang-Dekstrosa b) Medium Cecair Murashige dan Skoog.....	121
18	Paras Hidrogen Peroksida pada Ceper Daun Koko a) Klon MJS 47 b) Klon ICS 95 c) Klon MJS 47 Dan ICS 95.....	130
19	Peroksidaan Lipid pada Ceper Daun Koko a) Klon MJS 47 b) Klon ICS 95 c) Klon MJS 47 dan ICS 95.....	132
20	Aktiviti Spesifik Enzim Peroksidase untuk Ceper Daun Koko a) Klon MJS 47 b) Klon ICS 95 c) Klon MJS 47 dan ICS 95.....	135
21	Aktiviti Spesifik Enzim Polifenol Oksidase untuk Ceper Daun Koko a) Klon MJS 47 b) Klon ICS 95 c) Klon MJS 47 dan ICS 95.....	137
22	Aktiviti Spesifik Enzim Katalase untuk Ceper Daun Koko a) Klon MJS 47 b) Klon ICS 95 c) Klon MJS 47 dan ICS 95.....	139
23	Aktiviti Spesifik Enzim Glutathion Reduktase Ceper Daun Koko a) Klon MJS 47 b) Klon ICS 95 c) Klon MJS 47 dan ICS 95.....	142
24	Kandungan Asid Askorbik (Vitamin C) untuk Ceper Daun Koko a) Klon MJS 47 b) Klon ICS 95 c) Klon MJS 47	144

dan ICS 95.....

25 Kandungan α-Tokoferol untuk Ceper Daun Koko a) Klon MJS 47 b) Klon ICS 95 c) Klon MJS 47 dan ICS 95..... 146

26 Kandungan Jumlah Glutathion, Glutathion Teroksida (GSSG) dan Glutathion Terturun (GSH) untuk Ceper Daun Koko Klon MJS 47 dengan Menggunakan a) Medium Cecair Ekstrak Ubi Kentang Dekstrosa (PD) b) Filtrat Kultur (KF)..... 148

27 Kandungan Jumlah Glutathion, Glutathion Teroksida (GSSG) dan Glutathion Terturun (GSH) untuk Ceper Daun Koko Klon ICS 95 dengan Menggunakan a) Medium Cecair Ekstrak Ubi Kentang Dekstrosa (PD) b) Filtrat Kultur (KF)..... 149

28 Nisbah Kandungan Glutathion untuk Ceper Daun Koko a) Klon MJS 47 b) Klon ICS 95 c) Klon MJS 47 Dan ICS 95..... 152

SENARAI PLAT

PLAT		Mukasurat
1	Pokok Koko (*Theobroma cacao*) yang Telah Mengalami Perkembangan yang Sempurna.....	10
2A-2I	Bentuk Morfologi Sporangium (A, B, C, D. E dan H) dan Oogonium (F, G dan I) Kulat *Phytophthora palmivora*.....	22
3	Pod Koko yang telah Matang dan Masak (Klon ICS 95).....	60
4	Pod Koko yang telah Matang dan Masak (Klon MJS 47).....	60
5	Pod Koko (Klon MJS 47) yang Menunjukkan Gejala Penyakit Buah Hitam yang disebabkan oleh Kulat *Phytophthora* sp.....	61
6	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di atas Medium Ekstrak Kacang Peas Beragar (PEA) Selepas 5 Hari Pengeraman pada Suhu 27 ± 2 °C.....	92
7	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di atas Medium Ekstrak Ubi Kentang-Dekstrosa Beragar (PDA) Selepas 5 Hari Pengeraman pada Suhu 27 ± 2°C.....	93
8	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di atas Medium Ekstrak Malt Beragar (MEA) Selepas 5 Hari Pengeraman pada Suhu 27 ± 2°C.....	93
9	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di atas Medium Jus Sayuran V8-$CaCO_3$ Beragar (V8J/$CaCO_3$A) Selepas 5 Hari Pengeraman pada Suhu 27 ± 2°C.....	93
10	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di atas Medium Oatmeal Beragar (OMA) Selepas 5 Hari Pengeraman pada Suhu 27 ± 2°C.....	94
11	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di atas Medium Lobak Merah Beragar (CA) Selepas 5	

	Hari Pengeraman pada Suhu 27 ± 2°C.....	94
12	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di atas Medium Murashige dan Skoog Beragar (MSA) Selepas 5 Hari Pengeraman pada Suhu 27 ± 2°C..	96
13	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di atas Medium Czapex Dox Beragar (CDA) Selepas 5 Hari Pengeraman pada Suhu 27 ± 2°C.....	96
14	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di atas Medium Richard Beragar (RA) Selepas 5 Hari Pengeraman pada Suhu 27 ± 2°C.....	97
15	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di dalam Medium Cecair Ekstrak Kacang Peas (PE) Selepas 24 Hari Pengeraman pada 27 ± 2°C, 100 psm.....	100
16	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di dalam Medium Cecair Ekstrak Ubi Kentang-Dekstrosa (PD) Selepas 24 Hari Pengeraman pada 27 ± 2°C, 100 psm.....	100
17	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di dalam Medium Cecair Ekstrak Malt (ME) Selepas 24 Hari Pengeraman pada 27 ± 2°C, 100 psm.....	101
18	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di dalam Medium Cecair Jus Sayuran V8-$CaCO_3$ (V8J/$CaCO_3$) Selepas 24 Hari Pengeraman pada 27 ± 2°C, 100 psm.....	101
19	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di dalam Medium Cecair Lobak Merah (C) Selepas 24 Hari Pengeraman pada 27 ± 2°C, 100 psm.....	102
20	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di dalam Medium Cecair Murashige dan Skoog (MS) Selepas 24 Hari Pengeraman pada 27 ± 2°C, 100 psm.....	104
21	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di dalam Medium Cecair Richard (R) Selepas 24 Hari Pengeraman pada 27 ± 2°C, 100 psm.....	104

22	Pertumbuhan Kulat *Phytophthora* sp. di dalam Medium Cecair Czapex Dox (CD) Selepas 24 Hari Pengeraman pada 27 ± 2°C, 100 psm.....	105
23	Nekrosis bagi Ceper Daun Koko Klon ICS 95 Selepas 6 Hari Pendedahan dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp. yang Disediakan dari Medium Cecair Ubi Kentang-Dekstrosa (PD).....	111
24	Nekrosis bagi Ceper Daun Koko Klon MJS 47 Selepas 6 Hari Pendedahan dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp. yang Disediakan dari Medium Cecair Ubi Kentang-Dekstrosa (PD).....	112
25	Biji Benih *B. chinensis* yang Menunjukkan Pertumbuhan Hipokotil dan Radikal Selepas Didedahkan Selama 5 Hari dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp. yang Disediakan dari Medium Cecair Ubi Kentang-Dekstrosa (PD) pada Suhu 27 ± 2°C.....	122
26	Biji Benih *B. chinensis* yang Menunjukkan Pertumbuhan Hipokotil dan Radikal Selepas Didedahkan Selama 5 Hari dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp. yang Disediakan dari Medium Cecair Murashige dan Skoog (MS) pada Suhu 27 ± 2°C.....	123
27	Ceper Daun Koko Klon ICS 95 yang Diberi Pendedahan dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp. yang Berumur 16 Hari Selama 0, 1, 2, 4, 7, 11, 16 dan 22 Hari Dibandingkan dengan Kawalan.....	126
28	Ceper Daun Koko Klon MJS 47 yang Diberi Pendedahan dengan Filtrat Kasar Kultur *Phytophthora* sp. yang Berumur 16 Hari Selama 0, 1, 2, 4, 7, 11, 16 dan 22 Hari Dibandingkan dengan Kawalan.....	127

SENARAI SINGKATAN

ΔA/min	perubahan absorban per minit
$^1O_2$	oksigen tunggal
Abs	absorban
APx	askorbat peroksidase
bb	berat basah
BSA	Bovine Serum Albumin
CA	medium lobak merah beragar
Ca^{2+}	ion kalsium (II)
CBB	Coomassie Brilliant Blue
CDA	medium Czapex-Dox beragar
$-CH_2-$	kumpulan metilene
CHS	Chalcone syntase
Cu/ZnSOD	kuprum/zink superoksid dismutase
CU^{3+}	ion kuprum (III)
DAG	diasilgliserol
DCPIP	diklorofenol indofenol
DHA	dehidroaskorbat
DHAR	dehidroaskorbat reduktase
DNA	asid deoksiribonukleik
DTNB	asid 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoik
e	elektron
EDTA	asid etilenediamine-tetraasetik
Fe^{2+}	ion ferum (II)
Fe^{3+}	ion ferum (III)
$FeSO_4.7H_2O$	ferum sulfat
FeSOD	ferum superoksid dismutase
FKK	filtrat kultur kulat
x g	daya graviti
g/kultur	gram per kultur
GR	glutathion reduktase
GSH	glutathion bentuk terturun
GSSG	glutathion bentuk teroksida
H^+	ion hidrogen
H_2O	molekul air
H_2O_2	hidrogen peroksida
HCl	asid hidroklorik
HR	tindakbalas hiperkepekaan
ICS	Imperial College Selection
IKF	rawatan untuk koko klon ICS 95
IP_3	inositol 1,4,5-trifosfat
IPD	kawalan untuk koko klon ICS 95
KAT	katalase
KCl	kalium klorida
KF	filtrat kultur

KH_2PO_4	potasium dwihidrogen fosfat
MARDI	Institut Penyelidikan dan Perkembangan Pertanian Malaysia
MDA	malondialdehid
MDHAR	monodehidroaskorbat reduktase
MEA	medium ekstrak malt beragar
MJS	Mardi Jerangau Semenanjung
MKF	rawatan untuk koko klon MJS 47
MnSOD	manganese superoksid dismutase
MPD	kawalan untuk koko klon MJS 47
MSA	medium Murashige dan Skoog beragar
NADP	Nicotinamida Adenin Dinukleotida Fosfat
NADPH	Nicotinamida Adenin Dinukleotida Fosfat, bentuk terturun
$NaNO_3$	natrium nitrat
NaOH	natrium hidroksida
O_2	oksigen
O_2	radikal superoksida
OH	radikal hidroksil
OMA	medium oatmeal beragar
PAL	fenilalanin amonia lyase
PAR	4-(2-pyridulazo) resorcinol
PDA	medium ubi kentang-dekstrosa beragar
PDT	3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4 triazine
PEA	medium ekstrak kacang peas beragar
PLC	fosfolipase C
POD	peroksidase
PPO	polifenol oksidase
Psm	pusingan se minit
PUFA	asid lemak politaktepu
PVP	polivinil pirolidon
RA	medium Richard's beragar
R-OO	radikal lipid peroksil
R-OOH	lipid hidroperoksida
SA	asid salisilik
SAR	systemic acquired resistance
SOD	superoksid dismutase
TBA	asid thiobarbiturik
TCA	asid trikloroasetik
Ti	titanium
UV	ultraungu
v/v	isipadu/isipadu
V8J/$CaCO_3$A	medium jus sayuran V8-$CaCO_3$ beragar
VSD	vascular streak dieback
w/v	berat/isipadu

BAB I

PENGENALAN

Koko (*Theobroma cacao* L.), daripada famili Sterculiaceae merupakan suatu tanaman tropika yang berasal dari Amerika Selatan. Ianya dipercayai pertama kali ditemui di hutan Lembah Amazon dan Orinoco (Opeke, 1982). Penduduk pertama yang dipercayai menanam koko ialah orang-orang Maya dan Aztec dari Amerika Tengah, manakala peneroka-peneroka Eropah pula bertanggungjawab terhadap penyebaran tanaman koko ke negara-negara dimana pokok ini belum dikenali sebelumnya (Wood, 1985).

Koko kemudiannya telah ditanam di seluruh dunia terutamanya di negara tropika dan telah menjadi suatu tanaman utama di Asia Tenggara, Afrika Barat, Hindia Barat, India Selatan dan Amerika Selatan. Kini tanaman koko mempunyai kepentingan sebagai komoditi di pasaran dunia (Opeke, 1982).

Di Malaysia, usaha untuk menanam koko secara komersil telah dijalankan di antara tahun 1958 hingga 1959. Di Semenanjung Malaysia, usaha ini telah dimulakan dengan penanaman koko jenis Amelonado di Jerangau, Terengganu di kawasan seluas 405 ha (Mohd Yusof, 1986). Penanaman koko ini terus berkembang maju secara komersil sebagai salah satu