

KAJIAN PEMBIAKAN BAKTERI KITINOLITIK *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* DAN *BACILLUS* SP. PADA LIMBAH ORGANIK DAN FORMULASINYA SEBAGAI PESTISIDA HAYATI (*BIO-PESTICIDE*)

(Propagation and Formulation of Chitinolytic Bacteria on Organic Waste for Bio-Pesticide)

Giyanto¹⁾, Ace Suhendar²⁾, Rustam³⁾

¹⁾ Dep. Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB

²⁾ BB-Biogen. Litbang DEPTAN, Bogor

³⁾ Mahasiswa Pascasarjana Fitopatologi IPB

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mendapatkan isolat *P. fluorescens* dan *Bacillus* sp. yang bersifat kitinolitik dan antagonistik terhadap beberapa cendawan patogen serta mendapatkan media limbah organik modifikasi yang cocok untuk produksi massal isolat tersebut. Eksplorasi dan isolasi bakteri dari tanah perakaran berbagai tanaman telah didapatkan 21 isolat *P. fluorescens* dan 32 isolat *Bacillus* spp. bersifat kitinolitik dari total 83 isolat yang diperoleh. Isolat-isolat yang bersifat kitinolitik ternyata tidak semuanya menunjukkan potensi antagonistik terhadap cendawan patogen, hanya 12 isolat *P. fluorescens* dan 10 isolat *Bacillus* spp. diantaranya bersifat antagonistik terhadap salah satu atau beberapa jenis cendawan patogen yang diuji (*Rizoctonia solani*, *Fusarium oxisporum*, *Helminthosporium maydis*, dan *Pyricularia oryzae*). Dua isolat terpilih (*P. fluorescens* P24 dan *Bacillus* spp. BR2) yang memiliki sifat kitinolitik dan antagonistik ternyata mampu tumbuh baik pada media limbah organik dengan berbagai modifikasi komposisinya seperti pada media standar (Luria Broth), dengan populasi *P. fluorescens* P24 dan *Bacillus* spp. BR2 selama 6 jam inkubasi masing-masing lebih dari 10^9 cfu/ml (log 9,50) dan 10^8 cfu/ml (log 8,75).

Kata kunci: Bakteri kitinolitik, aktivitas antagonistik, produksi masal, limbah organik.

ABSTRACT

The objectives of this research were to get some bacterial isolates (*P. fluorescens* and *Bacillus* sp.) indicating chitinolytic and antagonistic to fungal pathogen and to get the composition modification of organic waste appropriately for growing of selected isolates. From 83 bacterial isolates evaluated, 21 and 32 of them were chitinolytic *P. fluorescens* and *Bacillus* spp respectively. Not all isolates indicating chitinolytic were antagonistic bacteria to fungal pathogen, only 12 and 10 isolates of *P. fluorescens* and *Bacillus* spp respectively were potential to inhibit the grow of fungal pathogen (*Rizoctonia solani*, *Fusarium oxisporum*, *Helminthosporium maydis*, dan *Pyricularia oryzae*). Two selected isolates that the most potent chitinolytic and antagonistic were able to grow on the modified organic waste as well as grow on Luria Broth medium, with the population densities achieved 10^9 cfu/ml (log 9,50) and 10^8 cfu/ml (log 8,75) for *P. fluorescens* and *Bacillus* spp., respectively.

Keywords : Chitinolytic bacteria, antagonistic activity, mass production, organic waste.

PENDAHULUAN

Bakteri kitinolitik merupakan bakteri yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim kitinase yang digunakan untuk mendegradasi senyawa kitin dalam memperoleh karbon, nitrogen, dan energi. Kemampuan itu menyebabkan kelompok bakteri kitinolitik berpotensi besar untuk dimanfaatkan sebagai agens pengendali hayati terhadap cendawan patogen, nematoda atau serangga hama karena kitin merupakan komponen struktural dari sebagian besar dinding sel organisme tersebut (Yanai *et al.* 1994). Kerusakan komponen kitin pada dinding sel mengakibatkan gangguan pertumbuhan dan kelangsungan hidup organisme.

Dua jenis mikroba golongan bakteri yang paling banyak dikembangkan sebagai pestidida hayati adalah *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus sp.* Keunikan dari kedua bakteri tersebut adalah bersifat saprofitik (mampu bertahan dan berkembang biak pada sisa-sisa limbah organik), menghasilkan antibiotik yang dapat membunuh mikroba patogen tumbuhan, mengkelat ion Fe, melarutkan fosfat serta kalium. Kedua jenis bakteri tersebut juga mampu menghasilkan hormon pemicu pertumbuhan tanaman seperti *indole acetic acid* (IAA), giberellin dan lain-lain. Kami telah berhasil memiliki isolat *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus sp* dengan sifat sifat tersebut di atas ditambah dengan sifat kitinolitik (mendegradasi kitin) yang mampu meningkatkan performan bakteri tersebut sebagai agens hayati. Dengan demikian kedua jenis bakteri tersebut berpeluang besar untuk dikembangkan sebagai pestisida hayati (*bio-pesticide*)

Pseudomonas fluorescens dan *Bacillus* telah banyak dilaporkan mampu menekan perkembangan beberapa patogen tumbuhan, seperti *P. fluorescens* Pf-5 menekan penyakit layu pada kapas yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani* (Howell and Stipanovic 1979), *Pythium ultimum* (Howell and Stipanovic 1980), dan busuk akar yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Sharifi-Tehrani *et al.* 1998). Kemampuan tersebut disebabkan oleh bakteri itu dapat menghasilkan beberapa senyawa antibiotik, seperti *phenazine carboxylic acid*, *pyrrolnitrin*, *oomycin A*, *2,4-diacetylphloroglucinol*, dan *pyoluteorin* (Schnider *et al.*, 1995), *hydrogen cyanide*, *phospholipase C*, dan *exoprotease* (Heeb *et al.* 2002). Produk *bio-pesticide* yang berasal dari *P. fluorescens* juga sudah dikomersialkan dengan merek dagang seperti BilghtBan dan Dagger G (Agrios 2005). Sedangkan produk komersial biopestisida dengan komponen utama *B. subtilis* seperti Companion (*B. subtilis* GB03), Kodiak TM,

Kodiak HBTM, EpicTM, Quantum 4000 dan System 3TM digunakan untuk mengendalikan penyakit tanaman yang disebabkan oleh *Rhizoctonia*, *Pytium*, *Fusarium*, dan *Phytophthora* (Nakkkeran *et al.* 2006).

Penelitian bertujuan untuk mendapatkan: (i) bakteri *P. fluorescens* dan *Bacillus* yang bersifat kitinolitik dan antagonistik terhadap beberapa cendawan patogen, (ii) modifikasi formulasi limbah organik yang cocok untuk produksi massal *P. fluorescens* dan *Bacillus* sp.

METODE PENELITIAN

Eksplorasi dan Seleksi Isolat *P. Fluorescens* dan *Bacillus* Spp.

Isolat *Pseudomonas* kelompok fluoresens dan *Bacillus* spp. diisolasi dari tanah perakaran berbagai tanaman dan dari koleksi Laboratorium Bakteriologi, Departemen Proteksi Tanaman. Metode isolasi dilakukan menurut Rustam *et al.* (2005). Untuk mendapatkan isolat yang bersifat kitinolitik, tiap isolat ditumbuhkan terlebih dahulu dalam media Luria Broth (10 g casein, 5 g yeast extract, 5 g NaCl, pH 7.2) dengan penambahan 1% serbuk kitin, selama 12 jam di atas inkubator bergoyang pada suhu ruang, kemudian diuji aktifitas kitinolitiknya seperti yang dilakukan Singh *et al.* (1999). Penentuan tingkat aktifitas kitinolitik diukur menurut Mew *et al.* (2006).

Potensi Isolat *P. Fluorescens* Dan *Bacillus* Spp. yang Bersifat Kitinolitik untuk Menekan Perkembangan Beberapa Cendawan Patogen

Penyediaan cendawan patogen. *Rhizoctonia solani* penyebab penyakit busuk pelepah pada tanaman padi, *Fusarium oxysporum* pv. *niveum* penyebab penyakit layu pada tanaman melon diperoleh dari koleksi Laboratorium Cendawan Departemen Proteksi Tanaman-IPB, dan *Helminthosporium maydis* penyebab penyakit bercak daun pada tanaman jagung serta *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit blast pada tanaman padi diperoleh dari koleksi BB-Biogen Litbang Deptan.

Potensi antagonistik isolat kitinolitik. Pengujian dan pengukuran daya antagonistik dilakukan pada media potato dekstrosa agar dengan metode kultur ganda seperti yang dilakukan Eliza (2004).

Pertumbuhan isolat *P. fluorescens* dan *Bacillus* spp terpilih pada limbah organik termodifikasi

Limbah organik yang digunakan berupa: limbah cair proses pembuatan tahu (TH), air kelapa (AK), serta limbah pengolahan ikan (LP). Limbah tahu dan air kelapa dapat langsung digunakan sedangkan limbah perikanan dibuat kaldu terlebih dahulu sebelum digunakan. Kaldu limbah perikanan dibuat dengan cara menghancurkan 10 gr limbah perikanan dengan blender. Setelah kaldu limbah berbentuk pasta ditambahkan air hingga volume mencapai 100 ml, kemudian kaldu limbah direbus hingga mendidih selama 10 menit. Kaldu disaring dengan menggunakan kain kasa, kemudian ditambahkan air hingga volume 100 ml.

Ketiga jenis limbah organik yang akan digunakan untuk pertumbuhan isolat dicampur dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer 250 ml dengan melakukan modifikasi terhadap komposisi tiap jenisnya, yaitu modifikasi 1 (20 ml AK + 25 ml TH + 5 ml LP); modifikasi 2 (15 ml AK + 31,75 ml TH + 3,75 ml LP), modifikasi 3 (12,5 ml AK + 35 ml TH + 2,5 ml LP; modifikasi 4 (7,5 ml AK + 41,25 ml TH + 1,75 ml LP) modifikasi 5 (5 ml AK + 44 TH + 1 ml LP) dan Kontrol (media Luria Broth). Media limbah organik yang telah dimodifikasi ditakar pHnya hingga netral kemudian disterilkan dalam autoklaf. Setelah itu tiap isolat terpilih (*P. fluorescens* P24 dan *Bacillus* spp. BR2) yang telah ditumbuhkan dalam media LB, diinokulasikan ke dalam media limbah termodifikasi (100:1) secara terpisah dan aseptik kemudian sediaan diinkubasi pada inkubator bergoyang (150 rpm). Pertumbuhan tiap isolat pada masing-masing media termodifikasi diamati dengan mengukur populasi isolat setiap 2 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Eksplorasi dan seleksi bakteri *P. fluorescens* dan *Bacillus* sp.

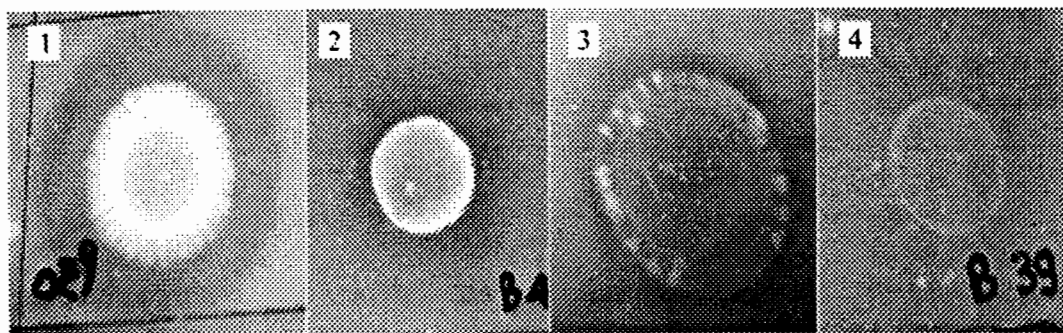
Dari 83 isolat *P. fluorescens* dan *Bacillus* spp. yang diperoleh terdapat 21 isolat *P. fluorescens* dan 32 isolat *Bacillus* spp. yang memiliki aktifitas kitinolitik. Kemudian dari isolat-isolat yang bersifat kitinolitik, 12 isolat *P. fluorescens* dan 10 isolat *Bacillus* spp. diantaranya bersifat antagonistik terhadap salah satu atau beberapa jenis cendawan patogen yang diuji (Tabel 1).

Tabel 1. Isolat *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus* spp. dengan tingkat aktivitas kitinolitik dan antagonistik

Kode isolat	Sumber	Aktivitas kitinolitik ¹⁾	Aktivitas antagonistik ²⁾			
			Rs	Fo	Hm	Po
<i>Pseudomonas</i> kelompok <i>fluorescens</i>						
P1	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	+++	+	+	+	-
P11	Citere-Pengalengan	+++	-	-	-	-
P14	Landungsari-Malang	+	+	-	-	-
P16	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	++	-	+	-	-
P21	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	+	+	-	-	-
P24	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	+	+	+	-	-
P25	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	+	-	-	-	-
P26	Maribaya-Lembang	+	+	-	-	-
P28	Malabar-pengalengan	+++	-	-	-	-
P29	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	+++	-	-	+	-
P30	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	+++	-	-	-	-
P32	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	+	+	+	-	+
P34	Batu-Malang	++	-	-	-	-
P36	Segunung-Cipanas	+++	-	+	-	-
P38	Malabar-Pengalengan	++	-	-	-	+
PJ5	Rhzosfir jagung, Bogor	+++	+	-	-	-
PJ13	Rhzosfir jagung, Bogor	++	-	-	-	-
PJ16	Rhzosfir jagung, Bogor	+	-	-	-	-
PJ17	Rhzosfir jagung, Bogor	++	-	+	-	-
PJ18	Rhzosfir jagung, Bogor	++	-	-	-	-
PR1	Rhzosfir rumput, Bogor	+	-	-	-	-
<i>Bacillus</i> spp.						
B1	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	+++	-	+	-	-
B3	Rizosfir pisang, Tembilahan	++	-	+	-	-
B13	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	+	-	-	-	-
B31	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	+	+	-	+	-
B32	Lab. Bakteriologi, DPT-IPB	+	-	-	-	-
B42	Rhizosfir pisang, Bogor	++	-	+	+	-
B46	Rhizosfir akasia, Riau	++	+	+	+	+
BS2	Rhizosfir Sawit, Palembang	+	+	+	-	-
BS4	Rhizosfir Sawit, Palembang	+	-	-	-	-
BS5	Rhizosfir Sawit, Palembang	++	-	-	-	-
BJ1	Rhizosfir jagung, Bogor	+++	-	-	-	-
BJ2	Rhizosfir jagung, Bogor	+++	-	-	-	-
BJ3	Rhizosfir jagung, Bogor	+++	-	-	-	-
BJ4	Rhizosfir jagung, Bogor	+++	-	-	-	-
BJ6	Rhizosfir jagung, Bogor	+++	-	-	-	-
BJ7	Rhizosfir jagung, Bogor	+++	-	-	-	+
BJ10	Rhizosfir jagung, Bogor	+	-	-	-	-
BJ12	Rhizosfir jagung, Bogor	++	-	-	-	-
BJ14	Rhizosfir jagung, Bogor	+	-	-	-	-
BP2	Rhizosfir padi, Bogor	+++	-	-	-	-
BP5	Rhizosfir padi, Bogor	++	+	+	-	-
BP8	Rhizosfir padi, Bogor	++	+	+	-	-
BB1	Rhizosfir bambu, Bogor	+++	-	-	-	-
BB2	Rhizosfir bamboo, Bogor	++	-	-	-	-
BR1	Rhizosfir rumput, Bogor	+	-	-	-	-
BR2	Rhizosfir rumput, Bogor	++	+	+	+	+
BR3	Rhizosfir rumput, Bogor	++	-	-	-	-
BR4	Rhizosfir rumput, Bogor	++	-	-	-	-
BR7	Rhizosfir rumput, Bogor	++	-	-	-	-

¹⁾ aktivitas kitinolitik : sangat kuat (+++), kuat (++) , sedang (+)

²⁾ pengujian dilakukan pada media PDA: bersifat antagonistik (+), tidak bersifat antagonistik (-).



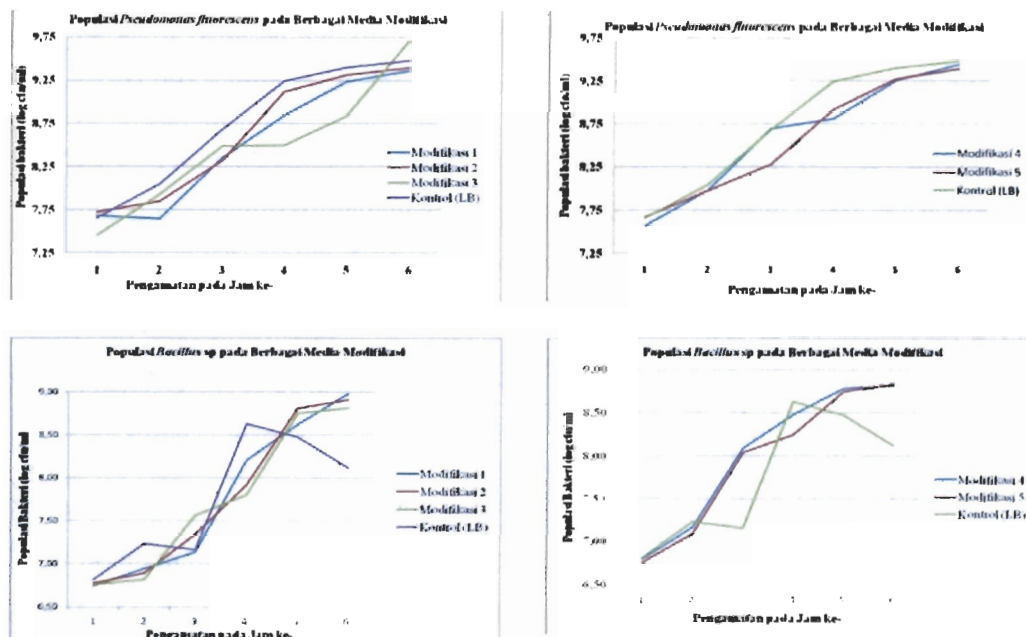
Gambar 1. Aktivitas kitinolitik dengan berbagai criteria: 1. sangat kuat, 2. kuat, 3. sedang, dan 4. Tidak ada aktivitas kitinolitik.

Berdasarkan sifat kitinolitik dan antagonistik serta sifat pertumbuhannya maka dipilih dua isolat untuk dikembangkan sebagai kandidat bio-pestisida, yaitu isolat BR2 mewakili kelompok *Bacillus* dan isolat P24 mewakili kelompok bakteri *fluorescens*. Bakteri BR2 dipilih karena kemampuannya menghambat perkembangan seluruh cendawan patogen yang diujikan (*R. solani*, *F. oxysporum*, *H. maydis* dan *P. oryzae*). Hal ini mengindikasikan bahwa bakteri BR2 berpotensi besar untuk dikembangkan sebagai agens hayati yang mampu meghambat perkembangan patogen-patogen penting tanaman. Sementara itu P24 dipilih karena sifat fenotipik yang menarik seperti sifat pertumbuhan yang cepat serta pendaran fluoresensi yang kuat yang mengindikasikan bakteri tersebut memiliki peluang yang besar untuk pengembangannya sebagai agens hayati. Kedua bakteri memiliki sifat melarutkan fosfat dan tidak bersifat patogen tumbuhan (data tidak ditampilkan).

Daya hambat isolat *P. fluorescens* P24 terhadap cendawan patogen *R. solani*, *F. oxisporum*, *H. maydis*, dan *P. oryzae* masing-masing sebesar 22%, 23%, 19%, dan 0%. Sedangkan daya hambat isolat *Bacillus* spp. BR2 terhadap cendawan patogen *R. solani*, *F. oxisporum*, *H. maydis*, dan *P. oryzae* masing-masing sebesar 36%, 49%, 52%, dan hampir 100%.

Pertumbuhan isolat *P. fluorescens* P24 dan *Bacillus* spp. BR2 pada berbagai modifikasi komposisi limbah organik

Penggunaan limbah organik air kelapa, limbah tahu dan limbah perikanan menunjukkan adanya potensi yang besar dari limbah-limbah tersebut sebagai media biakan bagi agens hayati *P. fluoresces* P24 maupun *Bacillus* sp. BR2 (Gambar 2).



Gambar 2. Kurva pertumbuhan isolat *P. fluorescens* P24 (atas) dan *Bacillus* spp. BR2 (bawah) pada media limbah organik hasil modifikasi: Modifikasi 1 (20 ml air kelapa + 25 ml limbah tahu + 5 ml limbah perikanan), Modifikasi 2 (15 ml air kelapa + 31,75 ml limbah tahu + 3,75 ml limbah perikanan), Modifikasi 3 (12,5 ml air kelapa + 35ml limbah tahu + 2,5 ml limbah perikanan), Modifikasi 4 (7,5 ml air kelapa + 41,25 ml limbah tahu + 1,75 ml limbah perikanan), Modifikasi 5 (5 ml air kelapa + 44 ml limbah tahu + 1 ml limbah perikanan), dan media Luria Broth (10 g casein, 5 g yeast extract, 5 g NaCl)

Pembahasan

Hasil eksplorasi bakteri kitinolitik mengindikasikan adanya keragaman tingkat ekspresi kitinase dari beberapa isolat bakteri yang diperoleh. Aktivitas kitinolitik isolat tersebut berkisar dari sangat kuat, kuat, sedang dan terdapat juga

isolat bakteri yang telah diisolasi tidak menunjukkan aktivitas kitinolitik sama sekali. Hal ini disebabkan oleh spesies isolat yang diperoleh adalah berbeda-beda, namun demikian karakter tersebut menjadi modal penting dalam rangka mencari agens hayati yang efektif.

Isolat yang memiliki aktivitas kitinase ternyata belum tentu memiliki sifat antagonistik. Isolat yang memiliki sifat kitinolitik dan antagonistik ternyata sifat antagonistik tersebut tidak selalu menunjukkan sifat antagonistik yang kuat terhadap seluruh cendawan patogen yang diuji. Hasil ini hampir sama dengan hasil penelitian yang dilakukan Kamil *et al.* (2007) dan Boer *et al.* (1997)..

Isolat BR2 dengan kemampuan aktivitas kitinolitik kuat ternyata bersifat antagonistik secara konsisten terhadap seluruh cendawan patogen yang diuji (*R. solan*, *F. oxisporum*, dan *H. maydis*), dengan daya penekanan sangat kuat (mencapai 100%). Isolat *P. fluorescens* P24 dengan kemampuan aktivitas kitinase sedang ternyata bersifat antagonistik terhadap tiga jenis cendawan patogen yang diuji, dengan daya penghambatan sekitar 20%.

Secara umum pertumbuhan isolat *P. fluorescens* P24 pada limbah organik yang dimodifikasi belum mampu melampaui pertumbuhannya pada media kontrol (LB), namun demikian pada media limbah modifikasi 1, 2, 3, 4 dan 5 menunjukkan pertumbuhan yang potensial (hampir menyamai pertumbuhan pada media kontrol). Sementara itu kurva pertumbuhan isolat *Bacillus* spp. BR2 menunjukkan fluktuasi pada media LB (kontrol).

KESIMPULAN

Diperoleh 83 isolat bakteri yang berasal dari beberapa ekosistem pertanian, dengan 21 isolat diantaranya dari kelompok *P. fluorescens* dan 32 isolat dari kelompok *Bacillus* spp. yang bersifat kitinolitik. Dari isolat yang bersifat kitinolitik ternyata 12 isolat *P. fluorescens* dan 10 isolat *Bacillus* spp. diantaranya bersifat antagonistik terhadap salah satu atau beberapa jenis cendawan patogen yang diuji (*R. solan*, *F. oxisporum*, dan *H. maydis*)..

Uji potensi antagonisme dari semua jenis bakteri kitinolitik menunjukkan bahwa daya hambat bakteri terhadap cendawan patogen tidak selalu berkorelasi positif dengan tingkat ekspresi kitinase. Dua isolat bakteri yaitu *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* isolat P24 dan satu isolat kelompok *Bacillus* sp. BR2 telah diseleksi memiliki daya antagonistik yang baik, masing-masing sekitar 20% dan 36-100%, keduanya memiliki sifat memproduksi kitinase, mampu tumbuh secara cepat dan bersifat melarutkan fosfat. Kedua isolat bakteri tersebut mampu tumbuh secara baik pada limbah air kelapa, limbah tahu dan limbah perikanan yang dimodifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios GN. 1997. *Plant Pathology*. Ed ke-4. San Diego: Academic Press.
- Boer WD, Gunnewiek K, Lafeber P, Janse JD, Spit BE, Woldendorp JW. 1998. Anti-fungal properties of chitinolytic dune soil bacteria. *Soil Biol. Biochem*, Vol 30 (2) 193-203.
- Eliza. 2005. Pengendalian layu *Fusarium* pada pisang dengan bakteri perakaran gramineae [tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, IPB.
- Heeb S, Blumer C, Haas D. 2002. Regulatory RNA as mediator in GacA/RsmA-dependent global control of exoproduct formation in *Pseudomonas fluorescens* CHAO. *J. Bacteriol*. 184:1046-1056.
- Howell CR, Stipanovic RD. 1979. Control of *Rhizoctonia solani* in cotton seedling with *Pseudomonas fluorescens* with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopatology* 69:480-482.
- Howell CR, Stipanovic RD. 1980. Supression *Phyrium ultimum* induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic pyoluteorin. *Phytopatology* 70:712-715.
- Kamil Z, Rizk M, Saleh M, Moustafa S. 2007. Isolation and Identification of Rhizosphere Soil Chitinolytic Bacteria and their Potential in Antifungal Biocontrol. *Global Journal of Molecular Sciences* 2 (2): 57-66, 2007.
- Mew T, Hameed KM, Saadoun IM. 2006. Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* Using Indigenous Chitinolytic Actinomycetes in Jordan. *Plant Pathol. J.* 22(2) : 107-114.
- Nakkeeran S, Fernando WGG, Zaki AS. 2006. Plant growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the

- Management of Pest and Diseases. Editor ZA siddiqui. PGPR: Biocontrol and biofertilization, 257-296. Netherlands: Springer.
- Rustam, Tjahjono B, Widodo, Supriadi. 2005. The potential of rhizospheric bacteria in controlling blood disease of banana. Journal of ISSAAS 11(3) 128-136.
- Schnider U, Keel C, Blumer C, Troxler J, Defago G, Haas D.1995. Amplification of housekeeping sigma factor in *Pseudomonas fluorescens* CHAO enhances antibiotic production and improves biocontrol abilities. J.Bacteriol. 177:5387-5392.
- Sharifi-Tehrani A, Zala M, Natsch A, Loccoz YM, Defago G. 1998. Biocontrol of soil-borne fungal plant diseases by 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *fluorescens pseudomonads* with different restriction profiles of amplified 16S rRNA. Er. J. Plant. Pathol. 104:631-643.
- Singh PP, Shin YC, Park CS, Chung YR. 1999. Biological control of fusarium wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. Phtopathology 89: 92-99.