
PENGARUH SUMBER KARBON TERHADAP PRODUKSI SIDEROFOR DARI BAKTERI PSEUDOMONAD FLUORESEN

THE INFLUENCE OF CARBON SOURCES ON THE PRODUCTION OF SIDEROPHORES FROM THE FLUORESCENT PSEUDOMONAD BACTERIA

Ilham Pratama*, Linda Advinda, Mades Fifendy
Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang, Padang
*Corresponding author: ilhampratama348@gmail.com

Abstract. Pseudomonad fluorescent is one of the rhizobacteria groups that could potentially be developed as a crop endurance inducer. Several species of fluorescent pseudomonad are able to produce siderophores. Siderophore is an antimicrobial organic compound that plays a role in biological control of plant diseases. This study aims to determine the best carbon source for the production of siderophores from the fluorescent pseudomonad isolates PfCas3 and PfLAHp2. The carbon sources are fructose, glucose, and glycerol. Detection of siderophores was measured using a spectrophotometer at a wavelength of 410 nm. The results showed that the best growth medium for producing siderophores was KB + glucose medium for both PfCas3 and PfLAHp2 isolates. The best combination was the use of PfCas3 isolate with the addition of carbon glucose source which resulted in the production of siderophores of 1.574.

Keywords: *Fluorescent pseudomonad, carbon sources, siderophore*



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2018 by author.

1. PENDAHULUAN

Pseudomonad fluoresen adalah salah satu kelompok rizobakteria yang berpotensi dikembangkan sebagai agen penginduksi ketahanan tanaman. Kelompok bakteri ini dapat diisolasi dari daerah perakaran tanaman dengan tidak mempertimbangkan fungsinya pada daerah perakaran tersebut. Beberapa jenis rizobakteria dapat menekan penyakit tanaman melalui respon induksi ketahanan dan beberapa strain ini dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman (Chatrri, 2006). Hasil penelitian Deshwal & Kumar (2013) mendapatkan beberapa spesies dari pseudomonad fluoresen yang mampu menghasilkan siderofor, antimikroba HCN, IAA, dan senyawa pelarut fosfat, serta memperlihatkan aktivitas pemacu pertumbuhan tanaman.

Senyawa siderofor adalah senyawa organik antimikroba yang berperan dalam pengendalian hayati penyakit tumbuhan yang memiliki afinitas besi yang sangat tinggi, larut dalam air dan cepat berdifusi. Kehadiran senyawa siderofor membuat pseudomonad fluoresen dapat melarutkan fosfor yang dibutuhkan tanaman, sehingga pertumbuhan tanaman lebih baik dan tahan terhadap penyakit (Habazar & Yaharwandi, 2006). Menurut Lick & Pasternak (2003) kelompok utama siderofor adalah hidrosamat, katekolat, karboksilat, dan etilendiamina. Umumnya siderofor tipe hidrosamat merupakan ciri khas untuk cendawan, katekolat untuk bakteri, dan karboksilat untuk tumbuhan.

Kehadiran senyawa siderofor pada pseudomonad fluoresen dapat menekan perkembangan penyakit *Blood Disease Bacteria (BDB)* pada bibit pisang. Advinda (2009) melaporkan bahwa pseudomonad fluoresen isolat PfPj1, PfPj2, PfCas3, PfLAHP2, PfPb2, PfPb3 dan PfPm1 mampu menekan perkembangan penyakit *BDB* pada bibit pisang serta meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang. Menurut Weller (2007), bakteri pseudomonad fluoresen dijumpai hampir di semua jenis lahan pertanian dan mempunyai beberapa ciri-ciri yang membuatnya cocok sebagai agen pengendali hayati penyakit tumbuhan terbawa tanah dan nematoda.

Dalam bidang mikrobiologi untuk menumbuhkan dan mempelajari sifat-sifat mikroorganisme diperlukan suatu media sebagai tempat pertumbuhan mikroorganisme. Media pertumbuhan harus memenuhi persyaratan nutrisi yang dibutuhkan oleh suatu mikroorganisme (Atlas, 2004). Pertumbuhan mikroba dapat terjadi dikarenakan adanya sumber energi. Sumber energi itu disebut juga dengan nutrisi yang merupakan substansi organik dan anorganik yang dalam larutan melintasi membran sitoplasma. Nutrien tersebut yang dibutuhkan mikroba adalah sumber karbon, sumber nitrogen, ion-ion anorganik tertentu, dan metabolit penting (vitamin; mungkin juga asam amino), dan air (Volk & Wheeler, 1988). Pertumbuhan dan perbanyakan agen biokontrol memerlukan suatu media tumbuh. Komposisi kimia yang terkandung dalam media tumbuh dapat mempengaruhi pertumbuhan agen biokontrol. Produksi antimikroba atau antibiotik dari agen biokontrol dipengaruhi oleh komposisi kimia ataupun garam-garam mineral yang terdapat pada media tumbuhnya (Advinda et al., 2018)

Sumber karbon secara umum diperlukan oleh mikroba untuk pertumbuhan dan perkembangannya (Goto, 1992). Menurut Weinberg (1977), sumber karbon juga sangat berpengaruh terhadap produksi senyawa antimikroba, transkripsi, promosi biosintesis, ketersediaan nutrisi dan pH selain menjaga integritas sel, juga sebagai katalisator enzim dan protein. Berdasarkan penelitian Addy (2007), dilaporkan bahwa sumber karbon yang diujikan berupa manitol, fruktosa, glukosa dan gliserol menunjukkan masing masing zat memiliki peran yang berbeda dalam menstimulasi produksi senyawa antimikroba pseudomonad fluoresen. Hal ini ditunjukkan dengan perbedaan pembentukan zona

hambatan oleh pseudomonad fluoresen terhadap *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* pada medium uji. Menurut Tarigan (1988), salah satu sumber energi adalah sumber karbon yang diperlukan oleh semua senyawa-senyawa organik yang menyusun sel tubuh mikroorganisme. Mikroorganisme yang tergolong kemoheterotrof memperoleh karbon dari sumber energi berupa bahan-bahan organik seperti karbohidrat. Golongan mikroorganisme yang kemoheterotrof memperoleh unsur karbon dari karbondioksida.

Perbedaan sumber karbon pada media tumbuh akan mempengaruhi pertumbuhan dan hasil metabolit sekunder dari mikroba. Pada penelitian Ulya (2009), dilaporkan bahwa *Streptomyces* spp. yang diuji mempunyai laju pertumbuhan yang berbeda. Isolat LSW05, LBR02, dan SSW02 mampu tumbuh pada media *Yeast Malt Agar*, sedangkan PS4–16 tumbuh baik pada media *Oatmeal Agar*. Perbedaan pertumbuhan tersebut menunjukkan bahwa kemampuan isolat dalam memanfaatkan sumber karbon berbeda. Hasil Penelitian Advinda (2010), dilaporkan bahwa isolat pseudomonad fluoresen dapat dilakukan perbanyakan dengan menggunakan medium air kelapa. Air kelapa sebagai medium produksi massal Pf, mempunyai jumlah bakteri tertinggi pada masa inkubasi 6 minggu. Namun pada masa inkubasi 8 minggu terjadi penurunan jumlah bakteri.

Biomassa tertinggi dari bakteri *Pseudomonas brassicacearum* strain J12 dapat dihasilkan jika sumber karbon dalam media tumbuh bakteri tersebut berupa glukosa, sebaliknya jika sukrosa yang digunakan sebagai sumber karbon maka biomassa bakteri tersebut rendah. *Pseudomonas brassicacearum* J12 tumbuh lebih baik pada sumber-sumber nitrogen organik daripada anorganik. *Tryptone* adalah sumber nitrogen yang paling baik untuk pertumbuhan dan aktivitas antagonistik bakteri *P. brassicacearum* J12 (Zhou et al., 2012).

1. METODE PENELITIAN

2.1 Pembuatan medium peremajaan dan perbanyakan pseudomonad fluoresen

2.1.1 Pembuatan medium King's B padat

Medium King's B (Protease pepton, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, dan agar) ditimbang sebanyak 42,23 g, ditambah gliserol 10 mL. Kemudian bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas *beaker*, dan ditambahkan akuades sampai volume 1.000 mL. Larutan dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi medium menggunakan *autoclave* pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2.1.2 Pembuatan medium King's B cair

2.1.1.1 Medium King's B + glukosa (konsentrasi 1,5%)

Masing-masing zat ditimbang dengan takaran berikut: Protease pepton sebanyak 5 g; K_2HPO_4 0,375 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,375 g, dan ditambah glukosa 3,75 g. Kemudian bahan-

bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas *beaker*, dan ditambahkan akuades sampai volume 250 mL. Larutan dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi medium menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2.1.1.2 Medium King's B + fruktosa (konsentrasi 1,5%)

Masing-masing zat ditimbang dengan takaran berikut: Protease pepton sebanyak 5 g; K₂HPO₄ 0,375 g; MgSO₄.7H₂O 0,375 g dan ditambah fruktosa 3,75 g. Kemudian bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas *beaker*, dan ditambahkan akuades sampai volume 250 mL. Larutan dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi medium menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2.1.1.3 Medium King's B + gliserol (konsentrasi 1,5%)

Masing-masing zat ditimbang dengan takaran berikut: Protease pepton sebanyak 5 g; K₂HPO₄ 0,375 g; MgSO₄.7H₂O 0,375 g dan ditambah gliserol 3,75 g. Kemudian bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas *beaker*, dan ditambahkan akuades sampai volume 250 mL. Larutan dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi medium menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2.1.1.4 Medium King's B (kontrol)

Masing-masing zat ditimbang dengan takaran berikut: Protease pepton sebanyak 5 g; K₂HPO₄ 0,375 g; MgSO₄.7H₂O 0,375 g dan ditambah gliserol 2,5 g. Kemudian bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas *beaker*, dan ditambahkan akuades sampai volume 250 mL. Larutan dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi medium menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2.2 Pembuatan medium uji kemampuan produksi siderofor

Medium produksi siderofor terdiri 20 g sukrosa; 2 g L-asparagin; 1 g K₂HPO₄ dan 0,5 g MgSO₄ yang dilarutkan ke dalam akuades hingga volume 1 Liter. Kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

2.3 Peremajaan dan perbanyak pseudomonad fluoresen

Setiap isolat pseudomonad fluoresen diremajakan dalam cawan petri pada medium King's B padat. Perbanyak inokulum dilakukan dengan mengambil satu ose biakan murni dalam petri, kemudian dibiakkan dalam 25 mL medium King's B cair dan dicampur sampai merata menggunakan *shaker* selama 24 jam pada suhu ruangan.

2.4 Penanaman isolat pseudomonad fluoresen PfCas3 dan PfLAHp2

Isolat pseudomonad fluoresen PfCas3 dan PfLAHP2 ditumbuhkan pada setiap medium yang telah dipersiapkan dengan cara mengambil 1 mL suspensi pseudomonad

fluoresen populasi 3×10^8 sel/mL (skala 1 Mc. Farland's). Kemudian suspensi tersebut ditanamkan pada cawan petri yang telah berisi medium (sesuai perlakuan) dengan metode tuang, dan dihomogenkan dengan cara diaduk membentuk angka delapan. Biakan kultur bakteri diinkubasi pada suhu ruangan selama 2x24 jam.

2.5 Produksi Siderofor

Untuk mengetahui produksi siderofor setiap isolat, terlebih dahulu dilakukan perbanyakan inokulum. Perbanyakan inokulum dilakukan dengan mengambil satu ose biakan dalam cawan petri yang telah dipersiapkan, kemudian dibiakkan dalam 25 mL medium King's B cair dan diaduk menggunakan shaker selama 24 jam pada suhu ruangan. Setelah 24 jam, diambil 1 mL suspensi, kemudian dipindahkan ke dalam 25 mL medium uji produksi siderofor dan diinkubasi selama 24 jam di atas shaker pada suhu ruangan.

Suspensi yang dihasilkan, diambil sebanyak 10 mL kemudian disentrifus dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dengan menggunakan *micropipet*. Pendeteksian produksi siderofor oleh pseudomonad fluoresen dilakukan dengan cara menambahkan 1 mL FeCl 0,01 M ke dalam 3 mL supernatan, sedangkan kontrol yang digunakan adalah supernatan tanpa penambahan FeCl. Deteksi siderofor diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm (Dirmawati, 2003 dalam Agustiansyah et al., 2013).

2. HASIL DAN DISKUSI

Isolat pseudomonad fluoresen PfCas3 dan PflAHp2 koleksi Advinda (Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang) diremajakan dengan medium King's B padat. Kemudian diperbanyak dengan medium King's B cair. Dalam penelitian ini isolat PfCas3 dan PflAHp2 yang sudah diperbanyak ditumbuhkan pada medium perlakuan yang telah ditambah dengan beberapa sumber karbon (glukosa, fruktosa, dan gliserol). Selanjutnya dilakukan uji produksi siderofor dari kedua isolat tersebut dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm. Hasil uji spektrofotometer didapatkan berupa angka *Optical Density* (OD). Produksi siderofor dari bakteri pseudomonad fluoresen dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Produksi siderofor isolat pseudomonad fluoresen PfCas3 dan PflAHp2 (OD pada panjang gelombang 410 nm)

ISOLAT	SUMBER KARBON				Pengaruh Utama A (Jenis Isolat)
	Glukosa	Fruktosa	Gliserol	Kontrol	
PfCas3	1,574 d	0,528 a	0,567 a	0,533 a	0,801 a
PflAHp2	1,354 c	0,435 a	0,928 b	1,027 b	0,936 b
Pengaruh Utama B (Sumber Karbon)	1,464 c	0,482 a	0,748 b	0,780 b	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata

Hasil pengamatan kemampuan isolat pseudomonad fluoresen PfCas3 dan PflAHp2 dalam memproduksi siderofor yang ditumbuhkan pada medium dengan penambahan sumber karbon yang berbeda menghasilkan angka OD yang berbeda pula.

Hasil produksi siderofor dari isolat pseudomonad fluoresen PfCas3 dan PflAHp2 yang telah ditumbuhkan pada medium berbeda menghasilkan angka OD yang berbeda pula. Dalam penelitian ini terlihat biosintesis siderofor oleh pseudomonad fluoresen PfCas3 dan PflAHp2 dipengaruhi oleh medium tumbuhnya. Menurut Yeole *et al.*, (2001) nutrisi yang terkandung dalam suatu medium tumbuh pseudomonad fluoresen akan mempengaruhi produksi siderofor. Hasil penelitian Giyanto & Tondok (2009), dilaporkan bahwa sumber nutrisi yang berbeda yang ditambahkan pada media tumbuh *Pseudomonas fluorescens* mempengaruhi pertumbuhan dan produksi senyawa antimikrobanya. Murugappan *et al.*, (2006) menyatakan perbedaan biosintesis siderofor oleh mikroorganisme di samping nutrisi, juga ruang, waktu, lingkungan dan kepadatan mikroorganisme.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa isolat pseudomonad fluoresen PflAHp2 menghasilkan produksi siderofor tertinggi yaitu 0,936 dibanding isolat PfCas3 yang menghasilkan produksi siderofor 0,801. Hasil analisis data pengaruh utama jenis isolat berpengaruh nyata terhadap produksi siderofor. Selanjutnya dilanjutkan dengan uji lanjut, menggunakan uji lanjut DNMR (*Duncan New Multiple Range Test*) dan berdasarkan hasil uji lanjut didapatkan bahwa isolat PflAHp2 menghasilkan produksi siderofor yang lebih baik dibandingkan isolat PfCas3.

Pengaruh utama sumber karbon terhadap produksi siderofor pseudomonad fluoresen menunjukkan bahwa penambahan sumber karbon glukosa menghasilkan produksi siderofor tertinggi yakni sebesar 1,464 dan yang terendah adalah sumber karbon fruktosa yaitu 0,4817. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa sumber karbon terbaik untuk produksi siderofor dari isolat pseudomonad fluoresen adalah sumber karbon glukosa. Hal ini sesuai dengan penelitian Duffy & Defago (1999) yang menyatakan bahwa senyawa antimikrobia yaitu siderofor berupa pyoluteorin dan pyrrolnitrin oleh *Pseudomonas fluorescens* CHA0 dapat ditingkatkan dengan penambahan manitol maupun glukosa.

Interaksi antara kedua faktor pada penelitian yaitu antara faktor A (jenis isolat) dan faktor B (sumber karbon) menunjukkan bahwa perlakuan dengan isolat PfCas3 dengan penambahan sumber karbon glukosa pada media tumbuhnya menghasilkan produksi siderofor tertinggi yaitu sebesar 1,574 dan yang terendah adalah pada isolat PflAHp2 dengan penambahan sumber karbon fruktosa yaitu sebesar 0,435.

Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa sumber karbon glukosa merupakan sumber karbon terbaik untuk meningkatkan biosintesis siderofor dari isolat pseudomonad fluoresen PfCas3 dan PflAHp2. Sedangkan kombinasi terbaik adalah penggunaan isolat PfCas3 dengan penambahan sumber karbon glukosa yang menghasilkan produksi siderofor

sebesar 1,574, dan kombinasi terbaik kedua adalah isolat PfLAHp2 dengan penambahan sumber karbon glukosa dengan produksi siderofor sebesar 1,354.

Berdasarkan penelitian Kumar (2017) yang menggunakan isolat bakteri VITVK5 dan VITVK6, dan dianalisis untuk mencapai kondisi optimum mereka dalam menghasilkan siderofor dengan sumber nutrisi berasal dari karbon dan nitrogen. Media pertumbuhan dengan sumber karbon dapat meningkatkan kapasitas pertumbuhan bakteri dan kemampuan produksi siderofor. Sumber karbon yang digunakan yaitu tiga sumber karbon utama glukosa, fruktosa, dan sukrosa. Kedua isolat bakteri menunjukkan konsentrasi yang lebih tinggi dari produksi siderofor ketika diberi sumber karbon sukrosa.

3. PENUTUP

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa penambahan sumber karbon yang berbeda pada media tumbuh pseudomonad fluoresen mempengaruhi tingkat produksi siderofor isolat PfCas3 dan PfLAHp2. Terdapat interaksi antara sumber karbon yang diberikan terhadap produksi siderofor dari isolat PfCas3 dan PfLAHp2. Selanjutnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh sumber karbon yang berbeda terhadap produksi siderofor isolat pseudomonad fluoresen.

DAFTAR PUSTAKA

- Addy HS. 2007. Pengaruh Sumber Mineral Terhadap Penekanan *Erwinia carotovora* oleh Pseudomonas Pendar-Fluor Secara In Vitro. *J. HPT Tropika*, 7(2): 117-124.
- Advinda L. 2009. Tanggapan Fisiologis Tanaman Pisang yang Diintroduksi dengan Formula Pseudomonad Fluoresen Terhadap Blood Disease Bacteria (BDB). *Disertasi*. Program Pascasarjana. Padang: Universitas Andalas.
- Advinda L. 2010. Produksi Massal Agens Hayati Pseudomonad fluoresen Menggunakan Medium Air Kelapa. *Jurnal Sainstek*, 2(1): 12-15.
- Advinda L, Fifendy M, & Anhar A. 2018. The addition of several mineral sources on growing media of fluorescent pseudomonad for the biosynthesis of hydrogen cyanide. *IOP Conf. Series: Material Science and Engineering*, 335: 012016. doi:10.1088/1757-899X/335/1/012016.
- Agustiansyah, Ilyas S, Sudarsono, & Machmud M. 2013. Karakterisasi Rizobakteri yang berpotensi Mengendalikan Bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Padi. *J. HPT Tropika*, 13(1): 42-51.
- Atlas & Ronald M. 2004. *Handbook of Microbiological Media fourth Edition Volume 1*. United States of America: CRC Press.
- Chatri M. 2006. *Buku Ajar Fitopatologi*. Padang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

- Duffy BK & Défago G. 1999. Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 2429-2438.
- Giyanto & Efi TT. 2009. Kajian pemanfaatan limbah organik cair untuk pembiakan masal agens antagonis *Pseudomonas fluorescent* serta uji potensinya sebagai bio-pestisida. *Jurnal ilmu pertanian Indonesia*, 14(2): 97-107.
- Glick BR & Pasternak JJ. 2003. *Molecular Biotechnology: Principles dan Applications of Recombinant DNA*. Ed ke-3. Washington: ASM Press.
- Goto M. 1992. *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. Tokyo, Japan: Acad. Press. Inc.,
- Habazar T & Yaherwandi. 2006. *Pengendalian Hayati Hama dan Penyakit Tumbuhan*. Padang: Andalas University Press.
- Murugappan RM, Rekha S & Thirumurugan R. 2006. Characterization and quantification of Siderophores produced by *Aeromonas hydrophila* isolated from *Cyprinus carpio*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(3): 437-444.
- Tarigan J. 1988. *Pengantar Mikrobiologi*. Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Jakarta: Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Kependidikan.
- Ulya J. 2009. Kemampuan Penghambatan *Streptomyces* spp. Terhadap Mikroba Patogen Tular Tanah Pada Beberapa Kondisi Pertumbuhan: Jenis Media, Waktu Produksi, pH, dan Suhu. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Volk WA & Wheeler MF. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Erlangga
- Weinberg ED. 1977. Mineral Element Control of Microbial Secondary Metabolism. In E. D. Weinberg (ed.), *Microorganisms and minerals*. Marcel Dekker, New York, N.Y.
- Weller DM. 2007. *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: Looking back over 30 years. *Phytopathology*, 97(2): 250-256.
- Yeole RD, Dave BP, & Dube HC. 2001. Siderophore production by fluorescent pseudomonads colonizing roots of certain crop plants. *Indian Journal of Experimental Biology*, 39: 464-468
- Zhou T, Chen D, Li C, Sun Q, Li L, Liu F, Shen Q, & Shen B. 2012. Isolation and characterization of *Pseudomonas brassicacearum* J12 as an antagonist against *Ralstonia solanacearum* and identification of its antimicrobial components. *Microbiological Research*, 167: 388-394.