

BULETIN *AgroBio*

ISSN 0853-9022

Vol. 2, No. 1, 1998

JURNAL TINJAUAN ILMIAH RISET BIOLOGI DAN BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Hara N, Efisiensi Penggunaan dan Dinamikanya dalam Sistem Padi Sawah Sismiyati Roechan, Irwan Nasution, & A. Karim Makarim	1
Status Plasma Nutfah Padi di Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, 1991-1998 Tiur Sudiaty Silitonga ...	7
Menuju Kesamaan Persepsi Terhadap Taksonomi Bakteri <i>Pseudomonas solanacearum</i> (SMITH 1896) SMITH 1914 M. Machmud	16
Pengembangan Uji Toksisitas Kristal Protein <i>Bacillus thuringiensis</i> dengan Brush Border Membrane Vesicle Tri Puji Priyatno	22
Bioekologi dan Pengendalian Penggerek Polong <i>Etiella</i> spp. Harnoto	31
Hama Wereng Coklat Padi: Perkembangan Biotipe, Mekanisme dan Genetika Ketahanan Varietas Ida Hanarida Somantri	36



Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

Menuju Kesamaan Persepsi Terhadap Taksonomi Bakteri *Pseudomonas solanacearum* (SMITH 1896) SMITH 1914

Muhammad Machmud

Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor

ABSTRACT

Towards a Unified View on Taxonomy of *P. solanacearum* (Smith 1896) Smith 1914. M. Machmud. *P. solanacearum*, the bacterial wilt pathogen, is a complex and heterogeneous species. Studies have proven that the bacterium is composed of a number of different strains differing in host range, colony morphology, physiology and biochemistry, fatty acid and membrane proteins profiles, phage susceptibility, serological reactions. Because of complexity of the species, control of the disease has not been very successful. Two popular schemes are currently used in grouping of the bacterial isolates, i.e. race and biovar groupings. Each of the schemes is an attempt to establish meaningful categories on the basis of phenotypic characters. However, there seems to be no correlation between the race and the biovar groupings, this is because the race system is based on ecological categories (host ranges), while the biovar grouping is based on phenotypic characters. Bacterial wilt scientists have put many efforts to study various aspects related to taxonomy of the pathogen. In the past decade, with the advancement of DNA technology, scientists have used molecular genetic techniques such as whole genome analysis, finger printing techniques and PCR to study systematic and phylogeny of the bacterium. This paper is a brief review on various works on molecular techniques that have been done by scientists to unify view on taxonomy of *P. solanacearum*.

Key words: Taxonomy of *P. solanacearum*, bacterial wilt, molecular genetic techniques.

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Pseudomonas solanacearum* mula-mula ditemukan oleh Smith tahun 1896 pada tanaman tomat dan patogennya diberi nama *Bacterium solanacearum*. Penyakit ini dengan cepat menjadi populer, terutama karena patogennya mempunyai daya rusak yang besar, daerah sebaran penyakit, dan kisaran inangnya yang luas, kemampuannya yang luar biasa untuk bertahan hidup di dalam tanah dan risosfir tanaman bukan inang, serta kemampuan variabilitas strainnya yang sangat tinggi. *P. solanacearum* mempunyai populasi strain yang sangat kompleks dan heterogen, karena mempunyai diversitas genetik yang luas. Strain bakteri ini telah dikelompokkan berdasarkan morfologi koloni (Kelman, 1953), ciri-ciri fisiologi dan

biokimia (Hayward, 1964), kisaran inang (Buddenhagen dan Kelman, 1964), serologi (Alvarez, *et al.*, 1993), kepekaan terhadap bakteriofag, profil asam lemak (Janse, 1991; Stead, 1993), struktur membran protein (Dristig dan Dianese, 1990), dan profil DNA-nya (Hayward, 1994b). Sebagai contoh, strain *P. solanacearum* dikelompokkan menjadi lima ras berdasarkan kisaran inangnya dan lima biovar berdasarkan kemampuannya mengkonsumsi disakarida dan gula alkohol. Sifat yang kompleks dan heterogen dari patogen ini mengakibatkan sulitnya menentukan kedudukan taksonomi *P. solanacearum* secara tepat, terutama pada tingkat subspecies. Hal ini juga mengakibatkan penyakit layu bakteri sulit dikendalikan.

Akhir-akhir ini para peneliti menyadari pentingnya menentukan taksonomi *P. solanacearum* yang

stabil dan dapat diterima oleh semua pihak, baik peneliti maupun pengguna lainnya. Para pakar biologi terapan termasuk pemulia dan ahli penyakit tumbuhan memerlukan cara pengelompokan yang berkaitan langsung dengan produksi tanaman pertanian (Hayward, 1994b). Cara pencirian kelompok strain *P. solanacearum* di tingkat infraspesifik hendaknya berkaitan langsung dengan patogenisitas, sehingga gatra hubungan inang-patogen yang berkaitan dengan pengendalian penyakit dapat dipelajari lebih baik. Saat ini pengelompokan ras dan biovar sangat populer pada *P. solanacearum*. Tetapi nampaknya kedua cara pengelompokan mempunyai kelemahan, karena tidak terdapat keterkaitan secara langsung, kecuali ras 3 yang berkaitan dengan biovar 2, dan merupakan strain kentang (Sequiera, 1993). Tidak adanya keterkaitan ini dapat dimaklumi, karena sistem ras berdasarkan pada kategori ekologi, sedangkan sistem biovar berdasarkan ciri-ciri fenotip yang klasik. Menurut Hayward (1994a) antara klasifikasi biovar dengan pengelompokan ras pada *P. solanacearum* terdapat hubungan yang tidak nyata (*imperfect*), sehingga perlu diteliti lebih lanjut.

Kemajuan yang pesat di bidang biologi dan genetika molekuler akhir-akhir ini memungkinkan dilakukannya identifikasi strain bakteri dengan memanipulasi DNA-nya. Para peneliti bakteri layu juga berupaya mengadopsi dan mengoptimalkan berbagai teknik molekuler untuk pengkajian taksonomi *P. solanacearum*, khususnya di tingkat subspecies, dengan harapan dapat menyusun suatu sistem taksonomi yang mantap.

Makalah ini merupakan bahasan pustaka tentang hasil penelitian dan upaya yang telah dilakukan oleh para pakar bakteri layu untuk

menyamakan persepsi tentang kedudukan taksonomi *P. solanacearum*.

SEJARAH PERKEMBANGAN TAKSONOMI *P. SOLANACEARUM*

Sejak awal ditemukannya penyakit layu bakteri, kedudukan taksonomi *P. solanacearum* pada tingkat spesies tidak banyak berubah (Krieg dan Holt, 1984). Mula-mula bakteri layu dideskripsi oleh E.F. Smith tahun 1896 dengan nama *Bacterium solanacearum*. Nama ini direvisi oleh Smith pada tahun 1914 menjadi *P. solanacearum*, sebagai anggota genus *Pseudomonas*, famili *Pseudomonadaceae*, dan ordo *Pseudomonadales*. Pada tahun 1994 Yabuuchi *et al.* (1992) mengusulkan nama genus *Burkholderia* untuk sebagian anggota genus *Pseudomonas* dan memasukkan *P. solanacearum* ke dalamnya, sehingga namanya menjadi *Burkholderia solanacearum*. Nama ini tidak berlaku lama dan direvisi lagi oleh Yabuuchi *et al.* (1995) dengan membagi genus *Burkholderia* menjadi dua genera, yaitu *Burkholderia* dan *Ralstonia*. *B. solanacearum* dimasukkan dalam genus *Ralstonia*, sehingga menjadi *Ralstonia solanacearum*.

Pada tingkat subspecies, sudah lama para pakar bakteri layu menyadari adanya variabilitas strain *P. solanacearum*. Pada awal tahun 1950-an telah dibahas kemungkinan pengelompokan strain *P. solanacearum* menjadi beberapa spesies atau beberapa strain di tingkat subspecies, tetapi belum ada hasil penelitian yang mendukung, sehingga pengelompokan ini belum dilakukan. Kelman (1953) mengelompokkan strain *P. solanacearum* menjadi tiga ras, yaitu ras 1, 2, dan 3 berdasarkan kisaran inangnya. Ras 1 mempunyai kisaran inang yang luas, ras 2 mempunyai inang *Heliconia* dan pisang triploid,

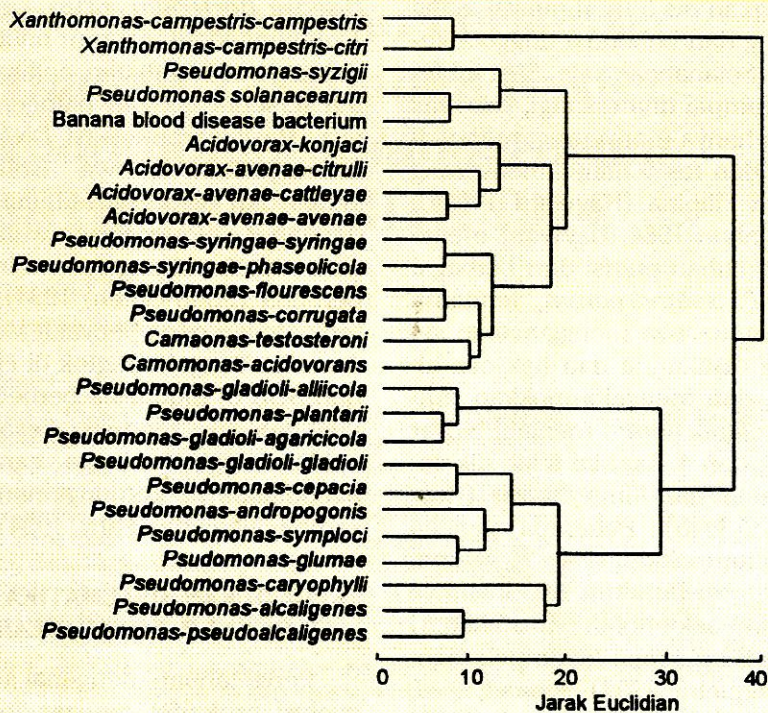
sedangkan ras 3 mempunyai inang kentang dan beberapa anggota keluarga *Solanaceae* saja. Saat ini telah dijumpai dua ras lagi, yaitu ras 4 yang hanya menyerang murbei di China dan ras 5 hanya menyerang jahe di Filipina (Hayward 1994a). Pada tahun 1964, Hayward meneliti kebutuhan nutrisi dari berbagai isolat *P. solanacearum*, terutama kemampuannya menggunakan senyawa disakarida dan heksosa alkohol, dan mengelompokkan strain *P. solanacearum* menjadi biovar 1, 2, 3, dan 4. Saat ini telah diketahui lebih dari lima biovar (Hayward, 1994b). Beberapa peneliti mengelompokkan strain *P. solanacearum* berdasarkan kepekaannya terhadap bakteriofah (virus bakteri) menjadi beberapa kelompok fagovar (Sequeira, 1992). Schaad, *et al.* (1978) dalam Alvarez *et al.* (1993) mengelompokkan isolat berdasarkan reaksi serologinya menjadi lima serovar, yaitu serovar I-V. Janse (1991) mengelompokkan strain *P. solanacearum* berdasarkan profil asam lemak, sedangkan Dristig dan Dianese mengelompokkan struktur membran protein dari dinding sel bakteri (Dristig dan Dianese, 1990; Dianese dan Dristig, 1994). Namun demikian, upaya pendekatan para peneliti untuk mengetahui sejauh mana hubungan cara-cara pengelompokan mereka dengan ciri-ciri yang dapat dijadikan sebagai dasar taksonomi belum dapat disepakati bersama, terutama karena masih selalu terdapat perbedaan persepsi mengenai cara pengelompokan strain, khususnya pada tingkat subspecies.

Kajian perbandingan ciri-ciri fisiologi dan biokimia juga dapat menunjukkan bahwa isolat *P. solanacearum* mempunyai kekerabatan dekat dengan *P. syzigii*, penyebab penyakit pembuluh cengkeh, dan *P. celebensis*, penyebab penyakit pembuluh darah pisang (*Blood*

Disease Bacterium, BDB). Gambar 1 menunjukkan diagram hubungan dekatnya kekerabatan antara bakteri tersebut dengan patogen lainnya. Hasil karakterisasi DNA juga menunjukkan bahwa isolat *P. syzigii* dan BDB erat hubungannya dengan *P. solanacearum* walaupun garis perkembangan evolusinya berbeda (Eden-Green, 1994). Bakteri patogen pada penyakit Moko di Amerika Tengah, Bugtok di Filipina dan BDB di Indonesia berbeda, tetapi mungkin memiliki kesamaan epidemiologi, sehingga cara pengendaliannya kemungkinan juga sama (Gilling dan Fahy, 1994).

KEDUDUKAN SISTEMATIKA DAN FILOGENI *P. SOLANACEARUM*

Pengetahuan mengenai sejarah evolusi prokariot dewasa ini berawal dari digunakannya metode biologi molekuler untuk mengetahui struktur genomik dari asam nukleat (RNA dan DNA). Metode molekuler telah digunakan untuk mengetahui heterogenitas dan filogeni dari bakteri genus *Pseudomonas*. Misalnya hubungan antara suatu spesies dari genus *Pseudomonas* dengan spesies lain yang mempunyai kekerabatan dekat dapat diketahui dengan teknik hibridisasi DNA:DNA. Bahkan dengan teknik hibridisasi rRNA:DNA hubungan kekerabatan antara anggota spesies *Pseudomonas* dengan genus lain yang agak jauh kekerabatannya juga dapat diketahui dan dikelompokkan menjadi lima kelompok homologi (I-V). *P. solanacearum* tergolong dalam kelompok homologi II dari subkelas beta *Proteobacteria* (Yabuuchi *et al.*, 1995). Berdasarkan determinasi urutan DNA-nya, anggota spesies dari kelompok homologi ini dapat dibedakan menjadi dua klaster spesies. Klaster I termasuk *P. andropogonis*, *P. caryophylli*, *P. gladioli* pv. *gladioli*, dan *P. cepacia* tergolong



Gambar 1. Kekerabatan antara *Pseudomonas solanacearum*, *P. syzygii*, dan bakteri pembuluh darah pisang (BDB, *P. celebensis*) I. Jauh dekatnya kekerabatan ditentukan berdasarkan jarak Euclidian (%), semakin dekat kekerabatan semakin kecil angkanya.

Sumber: Stead, 1993.

dalam satu kelompok yang mempunyai kesamaan urutan 94,2%, sedangkan *P. solanacearum*, *P. pickettii* masing-masing mempunyai kesamaan urutan 95,3% dan 92,8%. Kedua klaster mempunyai kesamaan 87,8% serupa dengan anggota genera dalam subkelas Proteobacteria.

Sampai saat ini, berbagai pertanyaan tentang evolusi dan struktur populasi *P. solanacearum* belum terjawab dengan baik, misalnya tentang: (1) asal dan inang alami suatu strain *P. solanacearum*, (2) sebaran strain bakteri tersebut dewasa ini dan cara penyebarannya, serta (3) kaitan eratnya skema hubungan ras dan biovar dengan evolusi dari spesies ini. Penggunaan teknik genetika molekuler diharapkan dapat memberikan jawaban terhadap pertanyaan tersebut.

BERBAGAI TEKNIK YANG DIGUNAKAN UNTUK MEMPELAJARI TAKSONOMI *P. SOLANACEARUM*

Pengelompokan Strain Berdasarkan Struktur Protein dan Profil Asam Lemak

Sejak tahun 1988 analisis asam lemak telah digunakan untuk mengidentifikasi spesies dan subspecies *P. solanacearum*. Janse (1991) dan Stead (1993) meneliti hubungan di bawah tingkat subspecies (infrasubspesifik) antara *P. solanacearum*, *P. caryophylli*, *P. cepacia*, *P. gladioli*, *P. pickettii*, *P. syzygii* serta bakteri BDB dan melaporkan bahwa hasilnya sesuai dengan ciri-ciri taksonomik (*taxonomic patterns*) berdasarkan homologi DNA-DNA bakteri tersebut. Berdasarkan analisis peubah ganda-

nya, ciri-ciri 69 isolat *P. solanacearum* dapat dikelompokkan menjadi empat kelompok infrasubspesifik.

Analisis struktur membran protein dari dinding sel juga telah digunakan untuk mengidentifikasi taksonomi *P. solanacearum* (Stead, 1993). Namun, masih banyak hal yang perlu diteliti lebih lanjut, misalnya untuk mengetahui pola membran protein dari isolat-isolat yang mewakili biovar dan ras yang berbeda. Data tentang membran protein perlu digunakan untuk pengujian serologis guna membedakan biovar. Analisis genetik dari membran protein juga penting untuk mengetahui protein yang mengikat bakteriofah (*phage-binding protein*), protein matriks dan protein porin (Dianese dan Dristig, 1994).

Pengelompokan Strain Berdasarkan Profil DNA

Perkembangan yang pesat dalam teknologi DNA telah memberikan kesempatan untuk mengidentifikasi strain bakteri berdasarkan manipulasi DNA. Metode ini memberi potensi untuk menyusun skema taksonomi *P. solanacearum* yang mencerminkan hubungan filogenetik secara akurat dan melakukan penyelidikan epidemiologi penyakitnya dengan teliti. Beberapa teknik genetika molekuler yang telah diterapkan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi *P. solanacearum* ialah: (1) analisis genom *P. solanacearum* secara utuh (*Whole genome analysis*), (2) analisis sidik jari genomik DNA (*DNA genomic fingerprinting*) yang dilakukan dengan teknik RFLP (*Restriction Fragment-Length Polymorphism*) dan RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), (3) *subtractive hybridization* (hibridisasi subtraktif) DNA, dan (4) PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Analisis genom *P. solanacearum* telah dilakukan menggunakan teknik *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE) dan kloning gen. Dengan cara ini diharapkan dapat mengetahui struktur genetik dari *P. solanacearum*, termasuk gen-gen yang mengatur virulensi dan patogenisitas, sehingga kita dapat mempelajari hubungan inang-patogen dengan lebih baik.

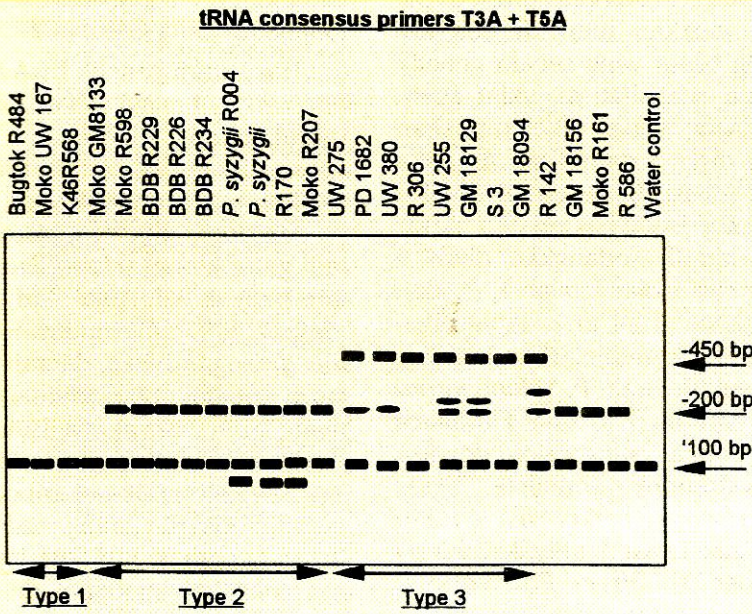
Teknik sidik jari genomik dapat dilakukan dengan cara memotong DNA genomik yang utuh menggunakan enzim restriksi dan elektroforesis (*schyzotyping*) (Seal dan Elphinstone, 1994). Dengan cara ini dapat diperoleh pola pita DNA hasil restriksi DNA dari suatu strain bakteri, sehingga dapat diketahui perbedaan dan persamaannya, serta dekatnya kekerabatan strain dan ciri-ciri lainnya. Cara uji sidik jari genomik lainnya ialah dengan teknik RFLP. Sebagai contoh Cook dan Sequeira pada tahun 1989 telah melakukan uji RFLP terhadap 62 isolat *P. solanacearum* dan 102 isolat lainnya (Cook dan Sequeira, 1994). Teknik RFLP juga dapat digunakan untuk mempelajari populasi bakteri patogen tumbuhan (Gilling dan Fahy, 1994). Pada *P. solanacearum* teknik ini telah digunakan untuk mempelajari: (1) asal dan kisaran inang strain *P. solanacearum* tertentu, (2) daerah sebaran strain *P. solanacearum* dewasa ini dan cara penyebarannya, serta (3) hubungan antara ras dengan biovar dalam kaitannya dengan evolusi *P. solanacearum*. Teknik ini juga telah digunakan untuk membedakan tipe dan mengelompokkan ras atau biovar *P. solanacearum* (Seal dan Elphinstone, 1994). Cook *et al.* (1989) dengan teknik RFLP dapat mengelompokkan 69 isolat *P. solanacearum* menjadi 28 cluster atau kelompok RFLP. Berdasarkan pengelompokan ini dapat disimpulkan bahwa secara garis

besar strain *P. solanacearum* dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok besar yang secara genetik berbeda sifat-sifatnya, yaitu strain Australasia yang dikelompokkan dalam divisi I dan strain Amerika dalam divisi II. Anggota divisi I mencakup isolat bakteri dari biovar 3, 4, dan 5, sedangkan divisi II mencakup isolat biovar 1, 2, dan N2. Teknologi ini juga dapat digunakan untuk menjelaskan hubungan di antara strain *P. solanacearum* dan keabsahan skema klasifikasi pada tingkat subspecies dewasa ini. Kelompok genotipik besar (divisi) sangat berkorelasi dengan kelompok besar fenotipik (biovar) (Gambar 3). Strain *P. solanacearum* asal pisang dan pisang tanduk yang umumnya tergolong ras 2 mencakup kelompok RFLP 24, 25, dan 28, dengan demikian ras ini mewakili biovar 1 yang tergolong dalam divisi II. Tetapi tidak semua biovar 1 dapat mewakili ras 2. Pada klasifikasi ras 1 juga dijumpai (*cut across*) klasifikasi biovar dan bagian (*division*). Meskipun di satu pihak berguna sebagai indikasi kisaran inang dari individu strain, tetapi tidak mewakili hubungan filogenetik dan evolusi.

Akhir-akhir ini teknik PCR juga banyak digunakan pada penelitian *P. solanacearum*. Teknik ini sangat peka, sangat spesifik, dan praktis, dapat mendeteksi bakteri langsung dari ekstrak tanaman hingga 10^3 sel/ml. Spesifisitasnya sangat tergantung pada spesifisitas primer DNA yang digunakan. Teknik ini memungkinkan untuk memeriksa *P. solanacearum* dari contoh yang ada di herbarium sehingga dapat dipelajari sejarah evolusi dari spesies kompleks sehingga dapat menunjang upaya pengendalian. Teknik ini juga dapat digunakan untuk mempelajari perbedaan genotipik dari *P. solanacearum* dengan patogen lain yang berkerabat dekat ber-

dasarkan profil DNA-nya, seperti ditunjukkan pada Gambar 2.

Hasil studi genetik DNA *P. solanacearum* hingga saat ini telah memberikan gambaran bahwa spesies ini terdiri dari sejumlah besar kelompok genetik yang berbeda dan dapat dikelompokkan menjadi galur klonal (*clonal lines*). Dalam banyak hal, isolat dari tiap kelompok RFLP mempunyai kisaran inang yang terbatas, daerah pencair yang terbatas, atau keduanya. Dengan lebih banyaknya isolat yang diteliti diharapkan akan dapat diperoleh kelompok-kelompok strain terbatas kisaran inang, daerah sebaran geografis dan data fenotipiknya. Bila hal ini dapat dilakukan, maka individu kelompok strain yang mempunyai sifat-sifat yang seragam dapat dideteksi secara dini. Meskipun demikian, apakah pengelompokan secara genetik ini akan diterima secara formal oleh para pakar bakteri layu masih merupakan bahan pembahasan. Dengan dasar ini sepertinya telah memungkinkan diajukannya dua nama patovar *P. solanacearum*, yaitu *pv. solanacearum* (atau *tuberosum*?) untuk anggota ras 3 biovar 2 dengan kelompok RFLP 26 dan *pv. musacearum* untuk anggota ras 2 biovar 1 dengan kelompok RFLP 24, 25, dan 28 (Gambar 3). Sebagai alternatif lain dapat pula dibentuk subspecies yang mewakili kedua divisi dari spesies ini. Tetapi pengelompokan ini akan mengaburkan kedua pengelompokan alami (ras 2 dan 3) yang telah diketahui dengan baik secara genetik maupun epidemiologik dan yang identifikasi serta diferensiasinya masih penting secara praktis. Oleh karenanya, hal ini masih memerlukan pembahasan lebih lanjut di antara para pakar bakteri layu. Namun demikian, bagaimanapun juga pengkajian strain *P. solanacearum* pada tingkat DNA telah dapat menjelaskan hubungan



Gambar 2. Sidik jari strain *P. solanacearum*, *P. syzygii*, dan BDB hasil amplifikasi PCR dengan primer konsensus tRNA T3A dan T5A. Pita sidik jari diperoleh dari elektroforesis pada gel agarose 2% dan diwarnai dengan ethidium bromida. Perkiraan ukuran pita berdasarkan pasangan basa (bp).
Sumber: Seal dan Elphinstone, 1994.

SPECIES	<i>Pseudomonas solanacearum</i>									
	Division 1 ("asiaticum")					Division 2 ("americanum")				
SUBSPECIES	3					4				
BIOVARS	8 9 15 16 19					N2 1 2 24 26				
RFLP GROUPS	10 12 11 17 18					31 32 3 4 25				
	13 14 21 22 21					33 5 6 28 27				
CLONES	[Grid]									
RACES	1					2		3		

Gambar 3. Skema secara umum hubungan strain *Pseudomonas solanacearum* pada tingkat infrasubspesies.
Sumber: Gilling dan Fahy, 1994.

antarstrain dan validitas skema klasifikasi pada tingkat subspesies yang berlaku dewasa ini. Akhirnya, secara garis besar strain *P. solanacearum* telah dapat dikelompokkan berdasarkan berbagai teknik dan ciri-ciri yang berbeda dan dirangkum dalam suatu skema yang rinci seperti tercantum pada Gam-

bar 3, tetapi para pakar bakteri layu masih memerlukan waktu untuk dapat menyatukan pendapatnya.

KESIMPULAN

Di masa depan, pakar biologi terapan memerlukan sistem klasifikasi yang mengandung informasi

yang cukup informatif guna memberikan nilai prediktif bagi para penggunanya di lapangan. Para peneliti telah melakukan berbagai upaya pendekatan untuk menyamakan pandangan masing-masing guna memperbaiki kedudukan taksonomi dan cara pengelompokan strain *P. solanacearum*, walaupun hingga saat ini masih belum menemukan titik temu yang nyata. Nomenklatur *P. solanacearum* pada tingkat genus dan spesies hingga saat ini masih cukup stabil. Perubahan nomenklatur pada tingkat genus *Pseudomonas* muncul dengan dipublikasinya dua nama genera, yaitu *Burkholderia* dengan tujuh spesies yang mewakili *Pseudomonas* dari kelompok II rRNA homologi yang dideterminasi berdasarkan perbandingan ciri-ciri urutan dari 16S rRNA, dan *Ralstonia*. *P. solanacearum* tergolong dalam genus *Ralstonia*, sehingga namanya menjadi *R. solanacearum*. Taksonomi dan nomenklatur pada tingkat subspesies dan infrasubspesies masih beragam dan kompleks, hingga perlu penelitian dan penyamaan persepsi lebih lanjut. Diharapkan teknologi DNA akan dapat memecahkan masalah ini di masa mendatang. Namun demikian hal yang sangat perlu diperhatikan dalam kaitannya dengan studi taksonomi ini ialah cara koleksi dan penyimpanan isolat yang baik dan benar, karena hal ini sangat menentukan keberhasilan upaya mempelajari taksonomi *P. solanacearum* dengan baik.

KEPUSTAKAAN

Alvarez, A.M., J. Berestecky, J.I. Stiles, S.A. Ferreira, and A.A. Benedict. 1993. Serological and molecular approaches to identification of *P. solanacearum* strains from *Heliconia*, pp. 62-69. In G.L. Hartman and A.C. Hayward (Eds.). Bacterial Wilt. ACIAR Proceedings No. 45. Canberra, Australia.

- Buddenhagen, I.W. and A. Kelman. 1964.** Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *P. solanacearum*. *Ann. Rev. Phytopathol.* 2:203-230.
- Cook, D., E. Barlow, and L. Sequeira. 1989.** Genetic diversity of *P. solanacearum*, detection of restriction fragment length polymorphisms with DNA probes that specify virulence and the hypersensitive response. *Mol. Plant Microbe Interactions* 2:149-156.
- Cook, D. and L. Sequeira. 1994.** Strain differentiation of *P. solanacearum* by molecular genetic methods, pp. 77-94. *In* A.C. Hayward and G.L. Hartman (Eds.). *Bacterial Wilt: The Disease and its Causative Agent, P. solanacearum*. CAB International, Wallingford, Oxon, England.
- Dianese, J.C. and M.C.G. Dristig. 1994.** Strain characterization of *P. solanacearum* based on membrane protein patterns, pp. 113-122. *In* A.C. Hayward and G.L. Hartman (Eds.). *Bacterial Wilt: The Disease and its Causative Agent, P. solanacearum*. CAB International, Wallingford, Oxon, England.
- Dristig, M.C.G. and J.C. Dianese. 1990.** Characterization of *P. solanacearum* biovars based on membrane protein patterns. *Phytopathology* 80:641-646.
- Eden-Green, S.J. 1994.** Diversity of *P. solanacearum* and related bacteria in South East Asia, pp. 25-34. *In* A.C. Hayward and G.L. Hartman (Eds.). *Bacterial Wilt: The Disease and its Causative Agent, P. solanacearum*. CAB International, Wallingford, Oxon, England.
- Gillings, M.R. and P. Fahy. 1994.** Genomic fingerprinting: Towards a unified view of the *P. solanacearum* species complex. *In* A.C. Hayward and G.L. Hartman (Eds.). *Bacterial Wilt: The Disease and its Causative Agent, P. solanacearum*. CAB International, Wallingford, Oxon, England.
- Hayward, A.C. 1964.** Characteristic of *P. solanacearum*. *J. Appl. Bacteriol.* 27:265-277.
- Hayward, A.C. 1994a.** The hosts of *P. solanacearum*, pp. 9-24. *In* A.C. Hayward and G.L. Hartman (Eds.). *Bacterial Wilt: The Disease and its Causative Agent, P. solanacearum*. CAB International, Wallingford, Oxon, England.
- Hayward, A.C. 1994b.** Systematic and phylogeny of *P. solanacearum* and related bacteria, pp. 123-136. *In* A.C. Hayward and G.L. Hartman (Eds.). *Bacterial Wilt: The Disease and its Causative Agent, P. solanacearum*. CAB International, Wallingford, Oxon, England.
- Janse, J.D. 1991.** Infra and intraspecific classification of *Pseudomonas solanacearum* strains using whole cell fatty acid analysis. *Systematic and Appl. Microbiol.* 14:335-345.
- Kelman, A. 1953.** *The Bacterial Wilt: Caused by Pseudomonas solanacearum*. CAB International, Wallingford, Oxon, England.
- Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1984.** *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* I. McMillan, New York. 964p.
- Seal, S.E. and J.G. Elphinstone. 1994.** Advances in identification and detection of *P. solanacearum*, pp. 35-58. *In* A.C. Hayward and G.L. Hartman (Eds.). *Bacterial Wilt: The Disease and its Causative Agent, P. solanacearum*. CAB International, Wallingford, Oxon, England.
- Sequeira, L. 1992.** Bacterial wilt: Past, Present, and Future, pp. 12-21. *In* G.L. Hartman and A.C. Hayward (Eds.). 1992. *Bacterial Wilt*. ACIAR Proceedings No. 45, Canberra, Australia.
- Sequeira, L. 1993.** Bacterial wilt: Past, Present, and Future, pp. 12-21. ACIAR Proceedings No. 45, Canberra, Australia.
- Stead, D.E. 1993.** Classification and identification of *P. solanacearum* and other pseudomonads by fatty acid profiling, pp. 49-53. *In* G.L. Hartman and A.C. Hayward (Eds.). 1992. *Bacterial Wilt*. ACIAR Proceedings No. 45, Canberra, Australia.
- Yabuuchi, E., Y. Kosako, H. Gyaizu, I. Yano, H. Hotta, Y. Hashimoto, T. Ezaki, and M. Arakawa. 1992.** Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. *Microbiol. Immunol.* 36:1251-1275.
- Yabuuchi, E., Y. Kosako, I. Yano, H. Hotta, and Y. Nishiuchi. 1995.** Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni, and Doudoroff 1973) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. *Microbiol. Immunol.* 39 (1):897-903.