



Research Articles

Efektifitas Filtrat Kultur yang Dihasilkan Oleh Berbagai Ras Sclerotium Rolfsii Terhadap Pertumbuhan in Vitro Kecambah Kacang Tanah

Effectiveness Of Culture Filtrate Produced By Sclerotium Rolfsii Races Against In Vitro Growth Of Peanut Seedling

A. Farid Hemon

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Mataram
Jl. Majapahit 62, Mataram 83125, Nusa Tenggara Barat, Indonesia.
Tel. +62-0370 621435, Fax. +62-0370 640189

*corresponding author, email: faridhemon_1963@yahoo.com

Manuscript received: 28-06-2022. Accepted: 21-10-2022

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektifitas filtrat kultur yang dihasilkan oleh beberapa ras *S. rolfsii* terhadap pertumbuhan in vitro kecambah kacang tanah. Penelitian ini diawali dengan mengkarakterisasi dan uji anastomosis group isolat *S. rolfsii* yang telah dikoleksi dari lapangan. Hasil kegiatan ini telah diperoleh empat (4) ras cendawan *S. rolfsii* yaitu ras 1, ras 8, ras 6 dan ras 9. Empat (4) ras ini diperbanyak untuk digunakan sebagai filtrat kultur (toksin metabolit). Filtrat kultur ini selanjutnya digunakan sebagai campuran media MS untuk pengujian in vitro kecambah kacang tanah. Media filtrat kultur untuk pertumbuhan kecambah kacang tanah merupakan campuran media dasar MS (Murashige dan Skoog), vitamin B5, gula sukrosa (30 g/L), agar-agar (8 g/L), dan filtrat kultur *S. rolfsii* (konsentrasi 0, 25, 30, 35%). Kultivar kacang tanah (cv. Lokal Bima, Kelinci, G-250, dan G-300) ditanam pada media MS dengan berbagai konsentrasi filtrat kultur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa filtrat kultur dari berbagai ras cendawan *S. rolfsii* memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kemampuan berkecambah benih dan mampu menghambat pertumbuhan kecambah kacang tanah. Konsentrasi filtrat kultur 35% sangat menghambat terhadap pertumbuhan kecambah kacang tanah dibanding konsentrasi filtrat kultur yang lebih rendah atau dibanding kontrol (tanpa filtrat kultur).

Kata kunci: asam oksalat; embrio somatik; filtrat kultur

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate of culture filtrate effectiveness produced by *S. rolfsii* races against in vitro growth of peanut seedling. The experiment was initiated with characterize and hyphal anastomosis group test of *S. rolfsii* isolates. This experiment has been gotten 4 races (race 1, 8,

6, 9). Four races were proliferated for used as culture filtrate selective agents. This culture filtrate will be used as material to be added with MS medium to peanut seedling growth test. Culture filtrate MS medium (MS+CF) consisted of MS based medium, B5 vitamin, sucrose (30 g/L), agar, and culture filtrate (different concentration 0, 25, 30, 35%). Seeds of peanut (cv. Local Bima, Kelinci, G-250, G-300) were cultivated in different concentration of culture filtrate of MS+CF medium. Results of study showed that culture filtrate from different races affected significantly againsts seed germination ability and inhibited growing peanut seedling. Culture filtrate concentration 35% was more inhibited to peanut seedling growing compared with lower culture filtrate concentration or compared control (without culture filtrate).

Key words: culture filtrate; oxalate acid; somatic embryo

PENDAHULUAN

Infeksi penyakit busuk batang (stem rot) yang disebabkan oleh cendawan *S. rolfsii* merupakan faktor pembatas produksi kacang tanah. Infeksi patogen ini dapat menurunkan kuantitas dan kualitas polong kacang tanah. Menurut Backman dan Brenneman (1997) kerugian hasil akibat serangan *S. rolfsii* dapat mencapai 25-80 %. Patogen ini mampu membentuk beberapa race-race fisiologi dan masing-masing race tersebut berbeda patogenisitasnya (Punja 1985; Benhamou & Chert 1996). Efektifitas patogenisitas cendawan *S. rolfsii* sangat erat kaitannya dengan kemampuannya untuk memproduksi asam oksalat. Sekresi toksin asam oksalat dari *S. rolfsii* bersifat racun untuk inang sehingga dapat mematikan jaringan tanaman inang. Hasil penelitian Ferrar dan Walker (1993) bahwa *S. rolfsii* dapat memproduksi konsentrasi milimolar oksalat pada jaringan yang terinfeksi. Asam oksalat ini dapat menghambat penutupan stomata sehingga tanaman akan mengalami transpirasi yang berlebihan sehingga tanaman mengalami kekeringan (kelayuan) (Kolkman dan Kelly, 2000).

Asam oksalat yang dikeluarkannya dapat meningkatkan virulensi cendawan *S. rolfsii*. Senyawa asam oksalat ini juga dapat menyebabkan klorosis dan nekrosis daun selama stadia pertama perkembangan tanaman (Backman & Brenneman 1997; Cessna et al., 2000).

Banyaknya ras-ras fisiologi yang tersebar pada pertanaman kacang tanah menyebabkan sulitnya mengendalikan cendawan ini dengan hanya mengandalkan ketahanan gen tunggal. Banyaknya ras menyebabkan juga mekanisme serangan pada tanaman akan bervariasi pula. Penggunaan kultivar yang memiliki spektrum resisten yang luas merupakan alternatif yang praktis dan ekonomis untuk meningkatkan daya hasil kacang tanah. Oleh karena itu, penyediaan kultivar kacang tanah yang memiliki sifat resisten terhadap penyakit busuk batang menjadi sangat penting.

Upaya untuk mendapatkan kultivar kacang tanah dapat dilakukan dengan meningkatkan variabilitas genetik tanaman melalui variasi somaklonal dan diikuti dengan seleksi kalus embriogenik (seleksi in vitro) (Karp 1995; Matsumoto et al., 1995). Seleksi kalus embriogenik dapat dilakukan dengan menggunakan filtrat kultur (toksin metabolit) yang dikeluarkan oleh *S. rolfsii* sebagai agens penyeleksi untuk mengidentifikasi sel atau jaringan tanaman kacang tanah yang tidak mati oleh filtrat kultur (Yusnita et al., 2005 ; Matsumoto et al., 1995). Penelitian sebelumnya telah dilakukan tentang penggunaan filtrat kultur *Fusarium* sp. 30% untuk identifikasi embrio somatik kacang tanah cv. Lokal Bima (Astiko dan Hemon 2010). Sebelum penggunaan filtrat kultur sebagai agens penyeleksi pada seleksi kalus embriogenik,

maka penggunaan filtrat kultur yang dihasilkan dari *S. rolfsii* dapat pula digunakan untuk mengidentifikasi ketahanan kecambah kacang tanah secara *in vitro* terhadap *S. rolfsii*. Kemampuan filtrat kultur sebagai agens penyeleksi sangat tergantung dari konsentrasi filtrat kultur. Konsentrasi filtrat kultur menunjukkan jumlah toksin metabolit yang terkandung dalam filtrat kultur tersebut. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji efektifitas filtrat kultur yang dihasilkan oleh beberapa ras *S. rolfsii* terhadap pertumbuhan *in vitro* kecambah kacang tanah.

BAHAN DAN METODE

Penyiapan ras *S. rolfsii* dan filtrat kultur

Telah dikoleksi 9 isolat cendawan *S. rolfsii* yang diisolasi dari berbagai daerah dan inang tanaman. Dari berbagai isolat yang telah dikoleksi dilakukan karakterisasi pertumbuhan koloni pada media PDA (Tabel 1). Setelah dilakukan karakterisasi pertumbuhan koloni, maka dilakukan uji *anastomosis group* berdasarkan modifikasi metode yang dikembangkan oleh Carling *et al.* (1994) dan Bains & Bisht (1995). Pada petridis yang berisi media PDA ditempatkan tiga koloni dari isolat yang berbeda. Diameter koloni yang digunakan adalah 5 mm yang berumur 3 hari. Jarak antar koloni 3 cm. Pasangan kombinasi dua isolat yang lain ditempatkan pula dalam media PDA. Berbagai isolat hasil koleksi diamati kompatibilitas pertumbuhan miselium. Pertumbuhan miselium antar isolat yang tidak terjadi kompatibilitas dianggap *anastomosis group* tersendiri (*race fisiologis* tersendiri).

Hasil karakterisasi pertumbuhan koloni dan uji *anastomosis group* diperoleh 4 ras *S. rolfsii*, yaitu ras 1, ras 6, ras 8, dan ras 9 (Tabel 1). Setelah diperoleh 4 ras *S. rolfsii*, maka selanjutnya dilakukan uji patogenitas. Hasil uji patogenitas menunjukkan bahwa ke empat ras tersebut berbeda patogenitasnya terhadap kacang tanah. Empat ras tersebut selanjutnya dikulturkan pada media PDA sebagai stok untuk keperluan pembuatan media filtrat kultur. Filtrat kultur (toksin metabolit) diperoleh dengan cara menumbuhkan 4 ras patogen pada media MSO. Pada umur 14 hari setelah tanam, cendawan tersebut disterilkan untuk mendapatkan filtrat kultur (toksin metabolit).

Tabel 1. Morfologi miselia isolat/ras-ras *S. rolfsii*

Isolat/ras-ras	Warna miselia	Struktur miselia	Ukuran sklerotia	Mulai terbentuk sklerotia (hari)
1	putih	kasar	besar	14-20
2	putih	kasar	besar	14-20
3	putih	kasar	besar	14-20
4	putih	kasar	besar	14-20
5	putih	kasar	besar	14-20
6	putih	kasar	besar	14-20
7	putih	kasar	besar	14-20
8	putih	halus tipis	kecil	4-6
9	putih	halus tipis	besar	10-14

Keterangan :

Isolat 1 = kacang tanah dari daerah Lombok Utara Tanjung 1

Isolat 2 = kacang tanah dari daerah Lombok Utara Tanjung 2

Isolat 3 = kacang tanah dari daerah Lombok Utara Tanjung 3

Isolat 4 = kacang tanah dari daerah Lombok Utara Tanjung 4

Isolat 5 = kacang tanah dari daerah Lombok Barat Labu Api 1

Isolat 6 = kacang tanah dari daerah Lombok Barat Labu Api 2
Isolat 7 = kacang tanah dari daerah Lombok Utara Desa Akar-Akar
Isolat 8 = tanaman hias lili bakung
Isolat 9 = tanaman hias Aleksis

Pembuatan media filtrat kultur

Media filtrat kultur untuk pertumbuhan kecambah kacang tanah merupakan campuran media dasar MS (Murashige dan Skoog, 1962), vitamin B5 (Gamborg *et al.*, 1968), gula sukrosa (30 g/L), agar-agar (8 g/L), dan filtrat kultur *S. rolfsii* (konsentrasi 0, 25, 30, 35%). Media diatur dengan pH 5,6 sebelum sterilisasi. Setelah agar-agar terlarut dalam media dengan pemanasan, media dituangkan dalam botol kultur ukuran 150 mL masing-masing sebanyak 25 mL dan ditutup dengan plastik. Media yang telah disiapkan disterilkan dengan pemanasan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 20 menit. Setelah didinginkan media filtrat kultur siap digunakan untuk uji pertumbuhan in vitro kecambah kacang tanah.

Penanaman benih kacang tanah

Benih kacang tanah yang digunakan dalam percobaan ini yaitu kultivar Kelinci, Lokal Bima, G-250, dan G-300. Benih kacang tanah dikupas dari polong kacang tanah tua yang telah dipanen minimal dua bulan. Benih-benih ini sebelum ditanam dalam media filtrat kultur disterilisasi dengan perendaman dalam larutan NaOCl (*Clorox*) 25% selama 20 menit. Benih kacang tanah yang telah steril selanjutnya dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali untuk menghilangkan sisa-sisa larutan sterilan. Tiap botol media ditanam 2 butir benih, yang sebelumnya benih tersebut dihilangkan satu kotiledonnya. Perlakuan dibuat dalam 5 botol (ulangan).

Pengamatan Pertumbuhan Kecambah Kacang Tanah

Pertumbuhan kecambah kacang tanah diamati setiap hari meliputi saat mulai berkecambah, jumlah benih yang berkecambah (jumlah kecambah mati atau tidak berkecambah). Pengamatan tinggi tanaman, jumlah daun, panjang akar, dan berat segar kecambah, diamati pada akhir percobaan (20 hari setelah tanam).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Filtrat kultur *S. rolfsii* merupakan toksin metabolit yang dihasilkan oleh *S. rolfsii*. Menurut Backman & Brenneman (1997) dan Cessna *et al.* (2000) bahwa selama melakukan proses patogenitas pada tanaman, *S. rolfsii* mengeluarkan toksin asam oksalat dan bersifat racun bagi tanaman inang. Pada penelitian telah diuji pengaruh konsentrasi filtrat kultur dari berbagai ras *S. rolfsii* terhadap pertumbuhan kecambah kacang tanah.

Respon kultivar kacang tanah terhadap filtrat kultur ras *S. rolfsii*

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa filtrat kultur ras fisiologis *S. rolfsii* berpengaruh nyata terhadap daya kecambah dan pertumbuhan kecambah beberapa kultivar kacang tanah. Filtrat kultur yang dihasilkan dari ras 1 mempunyai kemampuan yang tinggi dalam penghambatan perkecambahan kacang tanah dan diikuti dengan filtrat kultur ras 8, 6 dan 9 (Tabel 2). Kemampuan masing-masing ras dalam menghambat perkecambahan kacang ada kaitannya dengan kemampuan ras untuk menghasilkan toksin metabolit (Punja 1985; Benhamou & Chert 1996). Ras 1 mampu menghambat perkecambahan pada semua kultivar kacang tanah. Pada filtrat kultur ras 8 hanya kecambah kultivar G-250 yang tidak mati namun pada ras 6 ternyata kultivar tersebut mempunyai persentase kematian yang paling tinggi (10%). Ini menunjukkan bahwa setiap kultivar kacang tanah mempunyai respon yang berbeda terhadap

filtrat kultur ras cendawan. Benih kacang tanah pada filtrat kultur umumnya menghasilkan kecambah abnormal, kecambah hanya mampu memunculkan akar, namun tunas tidak berkembang dan akhirnya kecambah mati (Gambar 1).



Gambar 1. Gejala hambatan filtrat kultur pada perkecambahan kacang tanah, A= semua kecambah menghasilkan kecambah abnormal, B= kecambah tumbuh normal pada media tanpa filtrat kultur (anak panah) dan yang lain kecambah abnormal

Pada Tabel 2 juga terlihat bahwa perkecambahan sangat tergantung terhadap media tumbuh. Media tumbuh kecambah kacang tanah yang mengandung filtrat kultur (toksin metabolit) asam oksalat merupakan media tumbuh dengan pH 2-3 (data tidak ditampilkan). Tingkat keasaman yang rendah menyebabkan degradasinya dinding sel tanaman.

Tabel 2. Pengaruh filtrat kultur ras *S. rolfsii* terhadap persentase (%) kecambah mati

Kultivar	Filtrat kultur ras <i>S. rolfsii</i>			
	1	8	6	9
Lokal Bima	20,0 aA	3,0 bC	6,7 bB	3,3 bC
Kelinci	16,7 aA	10,0 aB	6,7 bC	6,7 aC
G-250	20,0 aA	0,0 cD	10,0 aB	3,3 bC
G-300	20,0 aA	13,3 aB	3,3 cD	6,7 aC

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada kolom atau huruf kapital yang sama pada baris tidak berbeda nyata

Filtrat kultur yang dari berbagai ras *S. rolfsii* berpengaruh juga terhadap penghambatan berat segar bibit kultivar kacang tanah (Tabel 3). Ras 8 mempunyai kemampuan yang besar untuk menghambat pertumbuhan berat segar kecambah kacang tanah pada berbagai kultivar. Kecambah kacang tanah yang mengalami hambatan pertumbuhan biasanya mengalami kerdil, batang menjadi pendek, daun kecil-kecil dan akar tidak tumbuh secara normal (Tabel 4).

Tabel 3. Pengaruh ras *S. rolfsii* terhadap berat segar bibit (g) kacang tanah

Kultivar	Kontrol (Tanpa filtrat kultur)	Ras <i>S. rolfsii</i>			
		1	8	6	9
Lokal Bima	2,57 aA	1,91 aB	1,46 bC	2,06 aA	1,85 aB
Kelinci	2,33 aA	2,02 aA	1,19 aC	1,51 bB	1,52 bB
G-250	2,54 aA	1,78 aB	1,48 bC	2,14 aA	2,15 aA
G-300	3,22 bA	2,14 aB	1,47 bC	2,09 aB	1,80 aB

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada kolom atau huruf kapital yang sama pada baris tidak berbeda nyata

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa filtrat kultur dari berbagai ras patogen dapat menghambat tinggi tanaman. Kultivar Kelinci yang paling mengalami keril terjadi pada ras 1. Asam oksalat yang dikeluarkan oleh ras-ras patogen diduga mampu menghambat pembelahan sel. Selain itu, kandungan asam oksalat yang ada pada filtrat kultur menyebabkan pergantian Ca^{2+} pada dinding sel tanaman oleh anion oksalat sehingga dapat melemahkan fungsi dinding sel tanaman (Pei *et al.*, 2000).

Tabel 4. Pengaruh ras *S. rolfsii* terhadap tinggi bibit (cm) kacang tanah

Kultivar	Kontrol (Tanpa filtrat kultur)	Ras <i>S. rolfsii</i>			
		1	8	6	9
Lokal Bima	8,05 aA	4,23 cC	4,22 bC	5,96 aB	5,60 abB
Kelinci	8,45 aA	3,98 cC	4,08 bC	5,12 bB	5,37 bB
G250	9,02 aA	5,33 bC	5,68 aBC	6,37 aB	6,51 aB
G300	8,34 aA	6,12 aB	5,45 aB	6,35 aB	6,05 aB

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil atau huruf kapital yang sama pada kolom atau baris yang sama tidak berbeda nyata

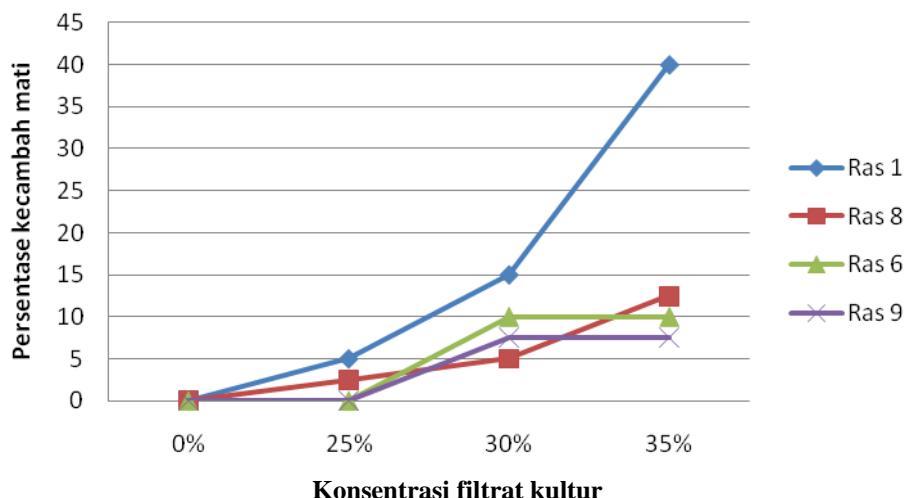
Respons kultivar kacang tanah terhadap konsentrasi filtrat kultur *S. rolfsii*

Konsentrasi filtrat kultur menunjukkan jumlah filtrat kultur (toksin metabolit atau asam oksalat) yang terlarut dalam media MS. Filtrat kultur mengandung toksin metabolit berupa asam oksalat yang dapat meracuni sel tanaman (Cessna *et al.*, 2000). Berikut ini disajikan pengaruh konsentrasi filtrat kultur dari berbagai ras *S. rolfsii* terhadap persentase kecambah mati kacang tanah. Pada Tabel 5 terlihat bahwa konsentrasi tinggi (35%) pada 4 ras cenderung menghambat perkecambahan benih dibanding konsentrasi rendah (Gambar 2). Konsentrasi tinggi menunjukkan bahwa konsentrasi asam oksalat pada larutan filtrat kultur tersebut adalah tinggi. Konsentrasi asam oksalat tinggi menyebabkan sel-sel tanaman mengalami degradasi dan kematian sel, sehingga kecambah yang tidak tahan akan menyebabkan kecambah mengalami kematian.

Tabel 5. Persentase (%) kecambah mati kacang tanah pada berbagai konsentrasi filtrat kultur *S. rolfsii*

Kultivar	Kontrol	Ras <i>S. rolfsii</i> dan Konsentrasi Filtrat Kultur											
		25%	30%	35%	25%	30%	35%	25%	30%	35%	25%	30%	35%
Lokal Bima	0	0	20	40	0	0	10	0	20	0	0	0	10
Kelinci	0	10	10	40	0	0	30	0	0	20	0	20	0
G250	0	10	10	40	0	0	0	0	10	20	0	0	10
G300	0	0	20	40	10	20	10	0	10	0	0	10	10

Keterangan : Kontrol = tanpa filtrat kultur



Gambar 2. Persentase kecambah kacang tanah yang mati pada berbagai konsentrasi filtrat kultur

Begitu pula pada berat segar kecambah ternyata kultivar kacang tanah menghasilkan berat segar kecambah yang lebih rendah pada konsentrasi 35% pada berbagai ras (Tabel 6). Transportasi oksalat yang melintasi membran plasma dapat menyebabkan penurunan pH pada semua sel sehingga akan menyebabkan terbukanya stomata dan kematian sel-sel (Kostman *et al.*, 2001). Konsentrasi filtrat kultur 35% selanjutnya dapat digunakan untuk seleksi *in vitro* para kalus embriogenik kacang tanah.

Tabel 6. Berat segar (g) kecambah kacang tanah pada berbagai konsentrasi filtrat kultur *S. rolfsii*

Kultivar Kacang tanah	Kontrol	Ras <i>S. rolfsii</i> dan Konsentrasi Filtrat Kultur											
		1			8			6			9		
		25%	30%	35%	25%	30%	35%	25%	30%	35%	25%	30%	35%
Lokal													
B ima	2,57	1,96	1,91	1,85	1,61	1,42	1,36	2,1	2,05	2,02	2,05	2,07	1,4
Kelinci	2,33	2,13	1,98	1,93	1,36	1,1	1,1	1,61	1,54	1,4	1,84	1,54	1,18
G250	2,54	2,04	1,88	1,43	1,7	1,34	1,4	2,26	2,19	2,0	2,36	2,13	1,95
G300	3,22	2,44	1,96	2,03	1,62	1,42	1,38	2,32	2,13	1,81	1,98	1,83	1,6

Keterangan : Kontrol = tanpa filtrat kultur

KESIMPULAN

Filtrat kultur dari berbagai cendawan *S. rolfsii* memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan *in vitro* kecambah kacang tanah dan mampu menghambat pertumbuhan kecambah kacang tanah. Konsentrasi filtrat kultur 35% menghambat pertumbuhan *in vitro* kecambah kacang tanah yang lebih besar dibanding konsentrasi filtrat kultur yang lebih rendah atau kontrol (tanpa filtrat kultur).

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini terlaksana atas biaya dari Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi RI melalui skim Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi dana Penelitian Desentralisasi Universitas Mtaram.

DAFTAR PUSTAKA

- Astiko, W dan Hemon A.F. 2010. Efektivitas filtrat kultur dan identifikasi embrio somatik dan kecambah kacang tanah kultivar Lokal Bima Pada filtrat kultur cendawan Fusarium sp. Crop Agro 3(2) : 147-153.
- Backman PA dan Brenneman TB. 1997. Stem-rot. In : Burelle NK, Porter DM, Kabana RR, Smith DH, Subrahmanyam P, (Ed.). Compendium of peanut disease. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Bains PS.dan Bisht VS. 1995. Anastomosis group identity and virulence of Rhizoctonia solani isolates collected from potato plants in Alberta, Canada. Plant Dis. 79 : 241-242
- Benhamou N dan Chert I. 1996. Parasitism of Sclerotium rolfsii by Trichoderma harzianum : ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. Phytopathology 86:405–416.
- Carling DE, Rothrock CS, MacNish GC, Sweetingham MW, Brainard KA, Winters SW. 1994. Characterization of anastomosis group 11 (AG-11) of Rhizoctonia solani. Ecology and Epidemiology 84: 1357-1393.
- Cessna SG, Sears VE, Dickman MB, Low PS. 2000. Oxalic acid, a pathogenesis factor for Sclerotinia sclerotiorum, suppresses the oxidative burst of the host plant. The Plant Cell 12:2191-2199.
- Ferrar PH, Walker JRL (1993) o-Diphenol oxidase inhibition—an additional role for oxalic acid in the phytopathogenic arsenal of Sclerotinia sclerotiorum and Sclerotium rolfsii. Physiol Mol Plant Pathol 43: 415–422
- Gamborg OL, Miller RA, Ojima K. 1968. Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50:151-158.
- Karp A. 1995. Somaclonal variation as a tool for crop improvement. Kluwer Acad. Publ. The Netherlands.
- Kolkman JM, Kelly JD (2000) An indirect test using oxalate to determine physiological resistance to white mold in common bean. Crop Sci 40: 281–285.
- Kostman TA, Tarlyn NM, Loewus FA, Franceschi VR (2001) Biosynthesis of L-ascorbic acid and conversion of carbons 1 and 2 of L-ascorbic acid to oxalic acid occur within individual calcium oxalate crystal idioblasts. Plant Physiol 125: 634–640.
- Matsumoto K, Barbosa ML, Souza LAC, Teixeira JB. 1995. Race I fusarium wilt tolerance on banana plants selected by fusaric acid. Euphytica 84:67–71.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised media for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15:473-493.
- Pei Z-M, Murata Y, Benning G, Thomine S, Klusener B, Allen GJ, Grill E, Schroeder JI (2000) Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. Nature 406: 731–734.

Punja ZK. 1985. The biology, ecology, and control of *Sclerotia rolfsii*. Ann. Rev. Phytopathol. 23:124–135.

Yusnita, Widodo, Sudarsono. 2005. In vitro selection of peanut somatic embryos on medium containing cultur filtrate of *Sclerotium rolfsii* and plantlet regeneration. Hayati 12:50-56.