

**SELEKSI IN VITRO TANAMAN ABAKA (*MUSA TEXTILIS* NEE) DENGAN
FILTRAT *FUSARIUM OXYSPORUM* UNTUK KETAHANAN TERHADAP
PENYAKIT LAYU FUSARIUM**

Fitri Damayanti

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Mulawarman
Jl. Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda

ABSTRAK

Permasalahan dalam usaha pertanaman abaka adalah serangan penyakit layu Fusarium akibat jamur *Fusarium oxysporum*. Varietas yang tahan penyakit tersebut sampai saat ini belum ada. Perbaikan tanaman terutama sifat ketahanan terhadap penyakit dapat dilakukan melalui peningkatan keragaman somaklonal yang diikuti dengan seleksi *in vitro*.

Peningkatan keragaman somaklonal tanaman abaka dilakukan dengan menggunakan mutagen fisik yaitu radiasi sinar gamma dengan dosis radiasi 0, 0,5; 1, 1,5; 2, dan 3 Krad yang dilakukan pada kalus embriogenik. Semakin tinggi dosis radiasi maka semakin rendah kemampuan kalus untuk beregenerasi. Pada dosis radiasi 3 Krad kalus tidak dapat beregenerasi dan mengalami kematian. LD₅₀ diperoleh pada kisaran dosis 1-1.5 Krad.

Seleksi *in vitro* dilakukan dengan menggunakan filtrat yang diisolasi dari *F. oxysporum* melalui dua tahap berurutan, dimana pada seleksi tahap II konsentrasi filtrat dinaikkan satu tingkat dari seleksi tahap I. Konsentrasi filtrat yang dicobakan adalah 0, 10, 30, dan 50%. Seleksi tahap I pada tunas yang dihasilkan dari kalus yang telah diradiasi dalam media yang mengandung filtrat menunjukkan semakin tinggi konsentrasi filtrat semakin rendah daya hidup tunas. Pada seleksi tahap II dimana konsentrasi filtrat ditingkatkan, tunas dari kalus hasil radiasi dapat hidup pada media seleksi. Pada media seleksi silang yang mengandung 75 ppm asam fusarat, tunas yang tahan filtrat *F. oxysporum* tahan juga terhadap asam fusarat. Perlakuan radiasi dapat meningkatkan persentase daya tahan tunas dalam media seleksi.

Kata kunci: Abaka (*Musa textiles* Nee), filtrat *F. oxysporum*, radiasi sinar gamma, penyakit layu Fusarium

PENDAHULUAN

Abaka (*Musa textilis*, Nee) merupakan salah satu jenis tanaman pisang penghasil serat. Kebutuhan dunia terhadap serat abaka masih tinggi dan tidak dapat dipenuhi oleh negara produsen seperti Filipina dan Ecuador (Wardiyati, 1999). Hal ini memberi peluang untuk pengembangan abaka di Indonesia. Dengan dukungan lahan dan iklim tropis yang sesuai bagi komoditas pisang-pisangan, abaka merupakan tanaman yang potensial untuk dikembangkan.

Masalah utama dalam pengembangan tanaman abaka adalah penyakit layu *Fusarium* akibat jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Pertanaman abaka secara besar-besaran dikhawatirkan menghadapi masalah penyebaran penyakit yang sangat cepat karena varietas yang ada tidak tahan terhadap penyakit layu *Fusarium*.

Untuk mengatasi masalah di atas dapat digunakan varietas yang tahan terhadap penyakit layu. Perakitan varietas yang tahan penyakit memerlukan keragaman genetik yang besar, padahal keragaman genetik abaka relatif rendah terutama untuk sifat yang berhubungan dengan ketahanan terhadap penyakit. Hal tersebut dapat diatasi dengan radiasi sinar gamma yang menghasilkan mutan dan meningkatkan keragaman genetik. Selama ini radiasi sinar gamma telah digunakan untuk merakit berbagai varietas. Telah banyak dilaporkan bahwa perlakuan radiasi yang dikombinasi dengan seleksi *in vitro* dapat memperbesar peluang mendapatkan varietas tanaman yang tahan penyakit.

Seleksi ketahanan tanaman terhadap penyakit layu *Fusarium* umumnya dilakukan secara *in vitro* pada massa sel atau jaringan yang dikulturkan pada media berisi komponen seleksi berupa filtrat dari patogen bervirulensi tinggi. Toksin dan filtrat *Fusarium* digunakan sebagai komponen seleksi karena ada korelasi antara ketahanan terhadap toksin dengan ketahanan terhadap penyakit (Arai dan Takeuchi, 1993). Melalui metode ini telah diperoleh tanaman yang tahan penyakit *Fusarium* seperti pada *carnation* (Arai dan Takeuchi 1993), gandum (Fadel dan Wenzel 1993; Ahmed *et al.* 1996), dan pisang (Morpurgo *et al.* 1994; Matsumoto *et al.* 1995; Matsumoto *et al.* 2000a,b). Melihat keberhasilan tadi, agaknya metode ini juga dapat diterapkan untuk abaka. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan metode seleksi

yang tepat dan untuk mendapatkan tunas tanaman abaka yang tahan penyakit layu *Fusarium* hasil regenerasi kalus yang diradiasi dan diseleksi dengan filtrat *F. oxysporum*.

BAHAN DAN METODE

Tanaman dan Filtrat

Dalam penelitian ini digunakan tanaman abaka (*Musa textilis* Nee) varietas Tangongon. Sebagai komponen seleksi digunakan filtrat *F. oxysporum*, yang diisolasi dari tanaman pisang barangan, yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor. Filtrat disterilkan dengan filter millipore agar diperoleh tingkat virulensi atau toksisitas yang tinggi.

Pengaruh Radiasi Sinar Gamma terhadap Daya Regenerasi dari Kalus

Untuk radiasi digunakan Irradiator Gammacell 220 (sumber Co 60) dengan dosis 0; 0,5; 1; 1,5; 2, dan 3 Krad. Eksplan yang diradiasi adalah kalus embriogenik abaka berukuran 5 mm. Setelah radiasi eksplan dikultur dalam media regenerasi Murashige dan Skoog (1962) yang diperkaya dengan sukrosa dan zat pengatur tumbuh yaitu 5 mg/l BAP + 0.4 mg/l thidiazuron + 100 mg/l asam askorbat selama delapan minggu. Penelitian disusun berdasarkan rancangan acak lengkap, menggunakan sepuluh kalus tiap perlakuan dengan empat kali ulangan. Parameter yang diamati adalah daya regenerasi kalus, LD₅₀, serta jumlah dan tinggi tunas pada umur delapan minggu setelah tanam.

Seleksi *in Vitro* Tunas untuk Ketahanan terhadap Filtrat *F. oxysporum*

Seleksi dilakukan dalam dua tahap berurutan dalam media yang mengandung filtrat *F. oxysporum*. Seleksi tahap I dilakukan pada tunas hasil radiasi dalam media seleksi pada beberapa konsentrasi yaitu 0, 10, 30 dan 50%. Inkubasi pada media seleksi dilakukan selama delapan minggu. Tunas yang tahan disubkultur pada media bebas filtrat (MS + 5 mg/l BAP + 0.4 mg/l thidiazuron + 100 mg/l asam askorbat) selama delapan minggu untuk proses pemulihan dan

multiplikasi. Selanjutnya dilakukan seleksi tahap II pada media yang mengandung filtrat *F. oxysporum* dengan konsentrasi dinaikan satu tingkat dari seleksi tahap I. Setelah delapan minggu tunas yang tahan diregenerasikan kembali. Tunas yang tetap hidup kemudian diseleksi dalam media yang mengandung 75 ppm toksin murni asam fusarat selama delapan minggu.

Percobaan disusun berdasarkan rancangan acak lengkap. Untuk tiap perlakuan digunakan sepuluh tunas sebagai ulangan. Parameter yang diamati pada tiap tahapan seleksi adalah persentase hidup tunas, jumlah dan tinggi tunas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Radiasi Sinar Gamma terhadap Daya Regenerasi Kalus

Radiasi berpengaruh terhadap daya regenerasi kalus. Setelah delapan minggu di media tanam, semua kalus yang tidak diradiasi dapat beregenerasi. Semakin tinggi dosis radiasi, semakin rendah kemampuan kalus untuk melakukan regenerasi membentuk tunas adventif. Pada radiasi 3 Krad kalus tidak dapat beregenerasi dan mengalami kematian.

LD₅₀ diperoleh pada kisaran radiasi 1– 1,5 Krad (Tabel 1). Ini lebih rendah dari pisang *cavendish* (Smith *et al.*, 1997) dan pisang raja sere (Imelda *et al.*, 1997). Menurut Nagatomi (1996), dosis terbaik untuk menghasilkan mutan terletak di bawah LD₅₀, walaupun pada dosis tersebut lebih banyak kerusakan pada stadia awal.

Perlakuan radiasi yang diberikan berpengaruh terhadap jumlah dan tinggi tunas yang dihasilkan (Tabel 1). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Novak *et al.* (1990) pada tunas pucuk pisang dari klon SH 3142, *Grand Nain*, *Highate*, SH 3436, AVP 67, *SABA* dan *Pelipita* yang diradiasi dengan sinar gamma 1.5, 3, 4.5, dan 6 Krad memperlihatkan jumlah tunas dan berat segar semakin menurun seiring dengan peningkatan dosis radiasi yang diberikan.

Pada radiasi 3 Krad tidak satupun kalus menghasilkan tunas. Proses regenerasi yang terhambat karena radiasi dapat menyebabkan rusaknya DNA sehingga proses sintesis protein atau enzim terganggu. Akibatnya metabolisme terganggu sehingga proses morfogenesis pada kalus embriogenik terganggu yang

menyebabkan proses regenerasinya terganggu. Pemberian radiasi yang diharapkan adalah yang mempunyai pengaruh fisiologis rendah namun berpengaruh terhadap perubahan-perubahan sifat tanaman ke arah yang diinginkan terutama sifat ketahanan terhadap penyakit.

Tabel 1. Pengaruh radiasi sinar gamma pada kalus embriogenik terhadap jumlah, tinggi tunas (cm) dan daya regenerasi kalus (%) yang dihasilkan pada umur delapan minggu setelah tanam

Dosis Radiasi (Krad)	Rerata Jumlah Tunas	Rerata Tinggi Tunas (cm)	Daya Regenerasi Kalus (%)
0.0	3.61 a	2.32 a	100
0.5	3.46 a	2.10 a	85.00
1.0	3.70 a	2.13 a	64.36
1.5	3.31 a	1.88 a	43.64
2.0	1.00 b	0.58 b	12.50
3.0	0.00 b	0.00 b	0.00

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji Duncan

Penampakan warna tunas yang terbentuk dari perlakuan radiasi bervariasi antara putih kehijauan dan putih kekuningan, sedangkan pada kontrol tunas yang dihasilkan berwarna hijau.

Tunas yang diperoleh dari perlakuan radiasi digunakan untuk seleksi *in vitro* ketahanan terhadap penyakit layu Fusarium dengan menggunakan filtrat *F. oxysporum*. Dalam hal ini tunas yang diambil adalah dari dosis radiasi 0-1,5 Krad. Tunas dari dosis 2 Krad tidak disertakan karena jumlahnya tidak memadai untuk perlakuan selanjutnya, sedangkan tunas dari dosis 3 Krad semuanya mati.

Seleksi *in Vitro* Tunas untuk Ketahanan terhadap Filtrat *F. oxysporum*

Seleksi tahap I

Setelah delapan minggu terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi filtrat *F. oxysporum* yang digunakan, semakin rendah persentase hidup tunas (Tabel 2). Pada kontrol semuanya tetap hidup. Hal ini diduga karena adanya daya hambat filtrat yang menunjukkan bahwa filtrat mengandung komponen organik yang bersifat toksik terhadap jaringan tanaman dan menghambat regenerasi tunas. Pada konsentrasi filtrat 10% semua tunas hasil radiasi dapat beregenerasi, kecuali pada perlakuan tanpa radiasi dan radiasi 1,5 Krad. Persentase tertinggi tunas yang hidup pada konsentrasi 30% dan 50% filtrat diperoleh dari perlakuan dosis radiasi 0.5 Krad kemudian diikuti pada dosis radiasi 1 Krad dan yang terendah adalah pada perlakuan tanpa radiasi. Ketahanan tunas hasil regenerasi dari kalus yang diradiasi terhadap filtrat yang diisolasi dari *F. oxysporum*, diduga karena tunas tersebut telah mengalami mutasi.

Dosis radiasi yang diberikan berpengaruh nyata terhadap parameter pertumbuhan. Dari Tabel 2 terlihat bahwa perlakuan radiasi dapat meningkatkan jumlah dan tinggi tunas yang dihasilkan. Hal ini diduga telah terjadi perubahan aktifitas metabolisme yang berdampak positif. Tunas yang berasal dari perlakuan dosis radiasi 1 Krad menghasilkan tunas yang paling banyak demikian juga untuk tinggi tunas. Sedangkan pada perlakuan radiasi 1.5 Krad menghasilkan jumlah dan tinggi tunas yang rendah, hal ini diduga karena perlakuan radiasi dosis tinggi mengakibatkan kerusakan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bahkan mengakibatkan kematian sel.

Secara umum radiasi meningkatkan daya tahan tunas dari kalus dalam media seleksi. Diduga radiasi menyebabkan mutasi sel somatik sehingga sel lebih adaptif terhadap stres. Tunas yang mati pada awalnya menunjukkan gejala busuk di pangkal batang yang menjalar ke bagian atas dan berwarna coklat kehitaman. Gejala itu menyerupai gejala penyakit layu *Fusarium* di lapangan.

Tabel 2. Jumlah, tinggi tunas (cm) dan persentase hidup tunas (%) pada media seleksi yang mengandung filtrat *F. oxysporum* 8 minggu setelah tanam

Dosis Radiasi (Krad)	Konsentrasi Filtrat (%)	Tunas Hidup (%)	Jumlah Tunas	Tinggi Tunas (cm)
0	0	100	1.50 a	1.57 a
	10	60.00	1.40 a	1.06 a
	30	50.00	0.50 a	0.34 a
	50	40.00	1.20 a	0.58 a
0.5	0	100	3.90 ab	3.06 a
	10	100	4.70 a	4.05 a
	30	92.31	2.50 b	1.57 b
	50	76.92	2.70 b	1.73 b
1	0	100	6.60 a	4.90 a
	10	100	4.50 b	3.96 a
	30	81.25	3.90 b	2.66 b
	50	66.67	3.50 b	2.33 b
1.5	0	100	2.86 a	1.86 a
	10	85.71	2.00 ab	1.47 ab
	30	57.14	1.30 ab	0.76 ab
	50	42.80	0.60 b	0.39 b

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada satu kolom dan dosis radiasi tertentu menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji Duncan

Setelah seleksi tahap I dilakukan perbanyak tunas pada media bebas toksin untuk proses pemulihan sebelum memasuki seleksi tahap selanjutnya. Periode kultur yang terus menerus dalam media yang mengandung toksin dapat menurunkan kemampuan sel untuk beregenerasi (Van den Bulk, 1991). Brazolot *et al.* (1994) melaporkan bahwa subkultur yang berulang pada media bebas toksin dapat meningkatkan ketahanan tanaman alfafa terhadap toksin.

Seleksi tahap II

Tunas yang tahan hasil seleksi tahap I setelah proses pemulihan diseleksi kembali dengan komponen seleksi yang sama tetapi konsentrasinya ditingkatkan satu tingkat. Seleksi secara bertahap dilakukan untuk mendeteksi dini dan penyaringan konsistensi sifat ketahanan yang diperoleh.

Tabel 3. Jumlah, tinggi tunas (cm) dan persentase hidup tunas (%) yang dihasilkan pada media seleksi tahap II yang mengandung filtrat *F. oxysporum* delapan minggu setelah tanam

Dosis Radiasi (Krad)	Konsentrasi Filtrat (%)		Tunas Hidup (%)	Jumlah Tunas	Tinggi Tunas (cm)
	Tahap I	Tahap II			
0	0	10	100	2.80 a	1.67 ab
	10	30	21.74	3.20 a	2.22 a
	30	50	20.00	1.00 b	0.54 b
	50	70	4.17	1.20 b	0.53 b
0.5	0	10	100	3.70 a	4.25 a
	10	30	65.02	3.60 a	3.76 a
	30	50	34.21	2.60 a	1.94 b
	50	70	25.00	1.50 a	1.39 b
1	0	10	100	6.20 a	6.29 a
	10	30	61.00	2.40 b	2.16 b
	30	50	30.28	1.20 c	1.35 b
	50	70	36.54	1.20 c	1.10 b
1.5	0	10	100	3.80 a	2.99 a
	10	30	46.67	1.90 b	1.23 b
	30	50	26.09	1.50 b	1.08 b
	50	70	20.00	1.00 b	0.53 b

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada satu kolom dan dosis radiasi tertentu menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji Duncan

Tabel 3 memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi filtrat *F. oxysporum* semakin rendah persentase tunas yang hidup. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi filtrat semakin tinggi pula konsentrasi toksisitasnya. Menurut Waggoner dan Dimond (1955) *Fusarium* dapat memproduksi enzim pektinmetilesterase, poligalakturonase dan enzim-enzim penghancur yang dapat menyebabkan kerusakan dinding sel dan menyebabkan gangguan pertumbuhan.

Untuk parameter pertumbuhan terjadi interaksi nyata antara dosis radiasi dengan konsentrasi filtrat (Tabel 3). Tunas terbanyak dihasilkan dari radiasi 0,5 Krad dengan konsentrasi 10% filtrat; begitu pula untuk tinggi tunas.

Secara visual terlihat adanya bentukan-bentukan baru akibat radiasi. Pada dosis 0.5 Krad dihasilkan tunas hijau muda. Radiasi 1 Krad menghasilkan tunas yang lebih gemuk dan vigor dengan daun hijau tua dan lebih lebar, sedangkan dari radiasi 1.5 Krad dihasilkan tunas kecil dan pendek (Gambar 1).



Gambar 1. Tunas dari kalus yang diradiasi pada media seleksi mengandung 30% filtrat *F. oxysporum*. a = 0,5 Krad, b = 1 Krad dan c = 1,5 Krad

Meningkatnya pembentukan tunas dan dihasilkannya bentukan baru akibat radiasi diduga karena perubahan metabolisme akibat perubahan komposisi basa untai DNA. Ada ion radikal yang masuk ke dalam jaringan dan menyebabkan perubahan susunan asam amino pada protein tertentu sehingga terjadi perubahan aktivitas enzim sesuai dengan protein yang terbentuk.

Seleksi Silang dengan Toksin Murni Asam Fusarat

Seleksi silang dengan toksin murni asam fusarat dilakukan untuk mengetahui ketahanan tunas terhadap filtrat yang diisolasi dari *F. oxysporum* dan asam fusarat. Tanaman yang tahan toksin tidak dijamin sepenuhnya tahan penyakit. Metode seleksi silang merupakan salah satu cara untuk mendapatkan kepastian hasil yang tinggi dari metode seleksi yang digunakan.

Tabel 4. Pengaruh radiasi sinar gamma dan filtrat *F. oxysporum* terhadap persentase hidup tunas pada seleksi silang umur delapan minggu setelah tanam

Dosis Radiasi (Krad)	Seleksi Awal Filtrat <i>F. oxysporum</i> (%)	Seleksi Silang AsamFusarat (ppm)	Persentase Hidup Tunas (%)
0	0-0	75	3.48
	10-30	75	6.19
	30-50	75	18.18
	50-70	75	13.79
0.5	0-0	75	48.52
	10-30	75	42.13
	30-50	75	46.34
	50-70	75	58.33
1	0-0	75	41.44
	10-30	75	37.80
	30-50	75	54.55
	50-70	75	63.64
1.5	0-0	75	16.67
	10-30	75	15.79
	30-50	75	*
	50-70	75	*

Keterangan : * jumlah eksplan tidak mencukupi dari seleksi tahap II

Hasil seleksi silang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi filtrat pada seleksi awal, semakin meningkat persentase hidup biakan (Tabel 4). Tunas yang tahan filtrat *F. oxysporum* tahan juga terhadap toksin murni asam fusarat. Radiasi pada kalus meningkatkan daya tahan tunas dalam media seleksi yang mengandung 75 ppm asam fusarat dibandingkan kontrol. Diduga terjadi mutasi sel-sel somatik akibat radiasi sehingga sel tersebut tahan terhadap stres.

KESIMPULAN

Radiasi dapat meningkatkan ketahanan tunas. Semakin tinggi konsentrasi filtrat *F. oxysporum* semakin menurun daya hidup tunas hasil radiasi. Tunas yang tahan terhadap filtrat *F. oxysporum* tahan juga terhadap toksin murni asam fusarat.

Radiasi 1 krad yang diikuti seleksi *in vitro* dalam media seleksi awal yang mengandung 50% filtrat *F. oxysporum* kemudian diseleksi kembali dalam media yang mengandung 70% filtrat *F. oxysporum* dan selanjutnya diseleksi silang dengan 75 ppm asam fusarat menghasilkan tanaman abaka yang tahan terhadap *Fusarium*.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian terhadap tunas-tunas abaka yang tahan terhadap filtrat *F. oxysporum* di rumah kaca dengan menggunakan konidia dari *F. oxysporum* dan perlu dilakukan analisa keragaman genetik terhadap tunas-tunas yang tahan tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, KZ., A. Mesterhazy., A. Bartok and F. Sagi. 1996. *In vitro* techniques for selecting wheat (*Triticum aestivum* L.) for *Fusarium*-resistance. II. Culture filtrate technique and inheritance of *Fusarium*-resistance in the somaclones. *Euphytica* 91:341-349.
- Arai, M. and M. Takeuchi. 1993. Influence of *Fusarium* wilt toxin(s) on carnation cells. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 34:287-293.

- Brazolot, J., K. Fu yu and K.P. Pauls. 1994. *In vitro* selection for disease/toxin resistance, hlm. 87-97. *In*: R.A. Dixon. and R.A. Gonzales (ed.), Plant Cell Culture A Practical Approach. Ed ke-2. New York: Oxford University Press.
- Fadel, F. and G. Wenzel. 1993. *In vitro* selection for tolerance to *Fusarium* in F₁ microspore populations of wheat. *Plant Breeding* 110:89-95.
- Imelda, M., P. Deswina. and Hendratno. 1997. Development of banana cv raja sere resistant to bunch top virus through gamma irradiation. Proceedings of the Indonesian Biotechnology Conference: 455-461.
- Matsumoto, K., M.L. Barbosa and L.A.C. Souza. 1995. Race 1 fusarium wilt tolerance on banana plants selected by fusaric acid. *Euphytica* 84:67-71.
- Matsumoto, K., M.L. Barbosa and J.B. Teixeira. 2000a. *In vitro* selection for Fusarium wilt resistance in banana. 1. Resistance to culture filtrate of race 1 *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, abstr. hlm 6054. *Musarama* 13:19.
- Matsumoto, K., C. Souza and M.L. Barbosa. 2000b. *In vitro* selection for Fusarium wilt resistance in banana. I. Co-culture technique to produce culture filtrate of race 1 *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, abstr. hlm. 6055. *Musarama* 13:19.
- Morpurgo, R., S.V. Lopato., R. Afza and F.J. Novak. 1994. Selection parameters for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* race 1 and race 4 on diploid banana (*Musa acuminata* Colla). *Euphytica* 75:121-129.
- Murasshige, T. and F. Skoogh. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15:473-497.
- Nagatomi, S. 1996. A new approach of radiation breeding toward improvement of disease resistance in crops, hlm 16-24. Proceedings Integrated Control of Main Diseases of Industrial Crops; Bogor; 13-14 March 1996.
- Novak, F. J., R. Afza., M. Van Duren. and M. S. Omar. 1990. Mutation induction by gamma irradiation of *in vitro* cultured shoot-tips of banana and plantains (*Musa cvs*). *Trop Agric* 67: 21-89.
- Philippine Council for Agriculture, Forestry and Natural Resources Research and Development. 1977. The Philippines Recommends for Abaca. Los banos, Laguna: PCARRD.
- Philippine Council for Agriculture, Forestry and Natural Resources Research and Development. 1988. Commodity Industry Analysis. Los banos, Laguna: PCARRD.
- Smith, M. K., S. D. Hamili., P. W. Langdon. and K. G. Pegg. 1997. *In vitro* mutation breeding for the development of bananas with resistance to race 4, Fusarium wilt. *Musarama* 9: 19. Abstr 4207.
- Van den Bulk, R.W. 1991. Application of cell and tissue culture and *in vitro* selection for disease resistance breeding – a review. *Euphytica* 56:269-285.
- Waggoner, P.E & A.E. Dimond. 1955. Production and role extracellular pectin enzymes of *Fusarium oxysporum* F. *lycopersici*. *Phytopath* 45:79-87.
- Wardiyati, T. 1999. Abaka (*Musa textilis* Nee). Jakarta: PT Nandinusa Abaka Mera.