

Pengaruh Inokulasi *Azotobacter* terhadap Produksi dan Kandungan Kadmium Tajuk Selada yang Ditanam di Andisol Terkontaminasi Kadmium

Reginawanti Hindersah¹, Asep Purnama Hidayat² dan Mahfud Arifin¹

¹Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Jatinangor Km.21 Bandung 40600

²Alumni Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran

Staf Departemen Pertanian RI

Korespondensi: reginawanti@yahoo.com

ABSTRACT

Effect of *Azotobacter* inoculation on yield and cadmium content of lettuce grown on cadmium-contaminated Andisols

Intensive application of organic matter and phosphate inorganic fertilizer could enhance cadmium (Cd) content in soil. Production of Cd-accumulator leafy vegetable in such soil has a risk to increase Cd content in the edible part of vegetable. Inoculation of biofertilizer *Azotobacter* also could increase Cd uptake since *Azotobacter* produce exopolysachharides which mobilize Cd. This field experiment has been done to verify effect of *Azotobacter* inoculation on the yield and Cd content in shoot of lettuce grown in Cd-Contaminated Andisols. The experimental design was randomized block design consisted of various concentration of *Azotobacter* inoculants. Results showed that inoculation of biofertilizer *Azotobacter* sp. LKM6 in a variety of concentration could enhance the fresh weight of lettuce shoots. However, with and without inoculation, Cd content in lettuce shoots was 2.25–2.50 mg kg⁻¹. This was higher than those recommended by FAO/WHO for leafy vegetable, 0.02 mg kg⁻¹.

Key words: Andisols, *Azotobacter*, Cadmium, Exopolysachharides, Lettuce

ABSTRAK

Aplikasi pupuk organik dan pupuk fosfat anorganik yang intensif dapat meningkatkan konsentrasi kadmium (Cd) tanah. Dengan demikian, budidaya sayuran akumulator Cd seperti selada meningkatkan resiko paparan Cd di tajuknya. Aplikasi pupuk hayati *Azotobacter* di lahan tersebut berpotensi meningkatkan serapan Cd karena *Azotobacter* memproduksi EPS yang memobilisasi Cd. Penelitian ini dilakukan untuk memastikan efek inokulasi *Azotobacter* terhadap produksi selada dan peningkatan Cd di tajuk selada yang ditanam di tanah Andisols terkontaminasi ringan oleh Cd. Penelitian lapangan dirancang dalam rancangan acak kelompok yang menguji beberapa konsentrasi inokulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi pupuk hayati *Azotobacter* sp. LKM6 dengan konsentrasi 0,1–1,5 % meningkatkan berat tajuk selada yang ditanam di lahan dengan 1,17 mg kg⁻¹ Cd. Namun demikian, tanpa maupun dengan inokulasi, tajuk selada mengandung Cd sebesar 2,25–2,50 mg kg⁻¹, lebih besar daripada ambang batas minimal Cd di sayuran daun menurut FAO/WHO sebesar 0,02 mg kg⁻¹.

Kata kunci: Andisol, *Azotobacter*, Kadmium, Eksopolisakarida, Selada

PENDAHULUAN

Selada (*Lactuca sativa* L) adalah salah satu tanaman sayuran dengan tingkat konsumsi yang cukup tinggi

di Pulau Jawa khususnya Jawa Barat. Produksi selada mensyaratkan suhu udara optimum 15–20 °C sehingga ditanam di pegunungan yang didominasi oleh jenis tanah Andisol yang subur. Pengalaman

petani telah membuktikan bahwa tanpa penambahan bahan organik dan pemupukan intensif, produktivitas sayuran dataran tinggi termasuk selada akan menurun. Di tanah Andisol pemupukan organik berupa pupuk kandang menjadi keharusan. Pupuk TSP dan SP-36 dengan intensif diberikan untuk mengantisipasi fiksasi fosfat oleh liat amorf alofan di Andisol.

Salah satu efek negatif aplikasi bahan organik dan pupuk anorganik terutama TSP dan SP-36 adalah masuknya kontaminan logam berat Cd dari bahan tersebut ke dalam tanah (Alloway, 1995b; Chien *et al.*, 2003). Saat ini Cd total di tanah pertanian Lembang ada yang mencapai lebih dari 1 mg kg⁻¹ padahal tanah Andisols alami di Lembang hanya mengandung 0,1 mg kg⁻¹ (Sudirja & Hindersah, 2007). Pada era pupuk hayati, mobilisasi Cd di dalam tanah dapat meningkat akibat aplikasi pupuk hayati yang memproduksi eksopolisakarida (EPS) seperti pemfiksasi nitrogen *Azotobacter*. EPS bakteri ini membentuk ikatan koordinasi dengan Cd (Chen *et al.*, 1995) sehingga Cd tersedia dan lebih mudah diserap tanaman.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan konsistensi peningkatan serapan Cd oleh tanaman akumulator Cd, selada, setelah aplikasi *Azotobacter* (Hindersah & Kalay, 2006; Hindersah *et al.*, 2007; 2007 a). Kemampuan EPS *Azotobacter* secara *in vitro* untuk mengadsorpsi Cd telah dibuktikan (Hindersah, 2008). Namun, pada penelitian tersebut, inokulan *Azotobacter* diproduksi pada media penginduksi produksi EPS. Dengan pertimbangan bahwa *Azotobacter* adalah pupuk hayati yang banyak digunakan dan pupuk organik cair sering mengandung bakteri pemfiksasi N₂ ini, maka keamanan penggunaannya perlu diperhatikan. Penggunaan inokulan *Azotobacter* yang diproduksi pada media yang tidak terlalu menginduksi produksi EPS seperti media bebas N, adalah salah satu alternatif menekan efek negatif *Azotobacter*. Penelitian ini bertujuan untuk memastikan efek inokulasi *Azotobacter* terhadap produksi selada dan peningkatan Cd di tajuk selada yang ditanam di tanah terkontaminasi ringan oleh Cd.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di lahan Balai Besar Pelatihan Pertanian Lembang, (± 1000 meter dpl) pada bulan Juli sampai dengan bulan Agustus tahun 2007. Tanah di lahan penelitian adalah Andisol (Lempung, pH 4,9, C organik 5.72 %, N total 0,22,

C/N 26, P total 45,0 mg kg⁻¹, total 16 % mg 100 kg⁻¹, KTK 28,35 cmol kg⁻¹, Cd 1,17 mg kg⁻¹).

Azotobacter sp. isolat LKM 6 diperoleh dari Laboratorium Biologi dan Bioteknologi Tanah Fakultas Pertanian Unpad yang diisolasi dari rizosfir tanaman kubis merah di tanah Andisols Lembang. Bakteri ini memfiksasi N₂ pada media Ashby bebas N dan menghasilkan EPS pada media Vermani. Inokulan bakteri dibuat pada media Ashby bebas N untuk menekan produksi EPS.

Percobaan lapangan ini menguji empat konsentrasi inokulan *Azotobacter* sp. isolat LKM6 dengan kepekatan 3.4x10⁹ cfu mL⁻¹ (inokulan cair:air, v:v) yaitu 0,1 %, 0,5 %, 1,0 % dan 1,5 %. Perlakuan kontrol tidak mendapatkan inokulan. Rancangan percobaan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan dengan lima ulangan. Petak percobaan berukuran 2 m x 3 m dengan jarak antar petak 50 cm. Bersamaan dengan pengolahan tanah, setiap petak diberi 12 kg (20 t ha⁻¹) pupuk kotoran kuda (pH 7,4, C organik 26,75 %, N organik 0,71 %, P₂O₅ 1,54 %, K₂O 0,42 %, Cd 1,6 mg kg⁻¹, kadar air 16,24 %). Petak yang telah diolah kemudian ditutup memakai mulsa plastik yang selanjutnya diberi lubang berdiameter 15 cm pada jarak tanam 30 cm x 30 cm.

Benih selada daun (*Leaf lettuce*) varietas *Green Orient* dibibitkan di rak pembibitan plastik dengan media pupuk kotoran kuda dan tanah (1:1; v:v). Satu batang bibit selada daun (*Leaf lettuce*) varietas *Green Orient* berumur 21 hari ditanam di setiap lubang tanam. Tanaman diberi pupuk NPK Phonska (15-15-15) dengan dosis 400 kg ha⁻¹. Pada saat tanam, diberikan 1/3 bagian NPK dan tiga minggu setelah tanam diberikan 2/3 bagian lainnya. Inokulasi *Azotobacter* dilakukan tiga hari setelah tanam saat tanaman sudah tumbuh baik. Selanjutnya inokulan diberikan kembali seminggu kemudian. Setiap tanaman diberi 50 ml inokulan *Azotobacter* untuk setiap aplikasi dengan konsentrasi inokulan sesuai perlakuan. Tanaman kontrol disiram dengan air dengan volume yang sama dengan inokulan. Tanaman disiram satu sampai dua kali sehari tergantung keadaan cuaca, dan dipelihara sampai 36 hari.

Saat panen dilakukan pengamatan terhadap konsentrasi Cd tersedia di sekitar perakaran, berat *crop* selada, dan konsentrasi Cd di tajuk selada. Sampel tanah dan tanaman berjumlah lima buah dari setiap petak percobaan dan diambil dengan cara acak tanpa mengikutsertakan tanaman di sisi petak. Konsentrasi Cd tanah dan tanaman ditentukan

dengan *Atomic Adsorption Spectrometry* setelah destruksi dengan asam nitrat dan asam klorida (Sulaeman *et al.*, 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat Basah Tajuk Selada

Inokulasi pupuk hayati *Azotobacter* meningkatkan berat tajuk selada (Tabel 1). Aplikasi 0,1 % inokulan sebanyak 50 mL bahkan dapat meningkatkan berat basah tajuk sebesar 20,4 %. Meskipun peningkatan ini tidak signifikan secara statistik, tetapi pada jarak tanam 30 x 30 cm peningkatan hasil dalam hamparan kecil 100 m² (populasi sekitar 1.000 tanaman) sudah meningkatkan hasil sekitar 11,74 kg. Peningkatan ini secara ekonomis cukup berarti.

Peningkatan tertinggi dicapai pada aplikasi inokulan dengan konsentrasi 0,5 dan 1 %, selanjutnya terjadi penurunan berat basah ketika inokulan diberikan pada konsentrasi lebih tinggi yaitu 1,5 %. Berat basah tajuk mencapai 68,2 % dan 63,1 % lebih tinggi daripada kontrol untuk perlakuan 0,5 dan 1 %. Meskipun menurun, aplikasi inokulan dengan konsentrasi 1,5 % masih meningkatkan hasil 44,4 %.

Tabel 1. Pengaruh *Azotobacter* sp. isolat LKM6 terhadap berat basah tajuk selada

Konsentrasi inokulan	Rata-rata berat basah (g tanaman ⁻¹)
Kontrol (tanpa inokulan <i>Azotobacter</i>)	57,52 a
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 0,1 %	69,26 ab
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 0,5 %	96,79 cd
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 1 %	93,82 cd
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 1,5 %	83,10 c

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5 %.

Inokulan yang digunakan, sebelum pengenceran, mengandung 3.4×10^9 cfu mL⁻¹. Kepadatan ini termasuk tinggi sehingga pengenceran 0,1 % berarti menurunkan populasi bakteri menjadi $3,4 \times 10^6$ cfu mL⁻¹. Dengan aplikasi dua kali 50 ml, maka *Azotobacter* yang ditambahkan pada setiap

tanaman mencapai 3.4×10^7 cfu mL⁻¹. Populasi *Azotobacter* di rizosfir tanaman umumnya hanya mencapai $10^3 - 10^4$ cfu mL⁻¹, maka penambahan $3,4 \times 10^7$ cfu mL⁻¹ meningkatkan populasinya selama pertumbuhan selada dalam jangka waktu 36 hari dan selanjutnya meningkatkan berat basah tajuk selada. Penurunan hasil pada perlakuan 1,5 % dapat disebabkan interaksi negatif dengan mikroba lain di rizosfir atau perakaran tanaman.

Pada penelitian ini, inokulan diproduksi pada media Ashby bebas N yang tidak terlalu menginduksi produksi EPS tetapi di dalam inokulan tetap didapatkan EPS sebesar 0,8 g L⁻¹. Dua faktor utama peran *Azotobacter* sebagai pupuk hayati yaitu fiksasi nitrogen dan produksi fitohormon memerlukan kondisi bebas N (Subba Rao, 1982; Taller & Wong, 1982). Peningkatan hasil selada ini dapat disebabkan oleh kapasitas di atas. Fiksasi gas dinitrogen dan produksi fitohormon telah dipastikan menginduksi pertumbuhan karena ketersediaan N meningkat dan fitohormon menginduksi pertumbuhan akar (Hindersah & Simarmata, 2004). Dilihat dari produksi EPS oleh *Azotobacter*, peningkatan hasil dapat disebabkan oleh: 1) peningkatan porositas di sekitar rizosfir dan dan zone perakaran akibat adanya EPS, 2) peningkatan serapan unsur hara mikro dan *trace element* akibat kompleksasi oleh EPS yang mobil.

Alami *et al.* (2000) telah menjelaskan efek EPS yang diproduksi bakteri *Rhizobium* terhadap perbaikan agregasi dan porositas tanah setelah inokulasi. Agregasi tanah ini menyebabkan unsur hara nitrogen terserap lebih optimal. Penelitian Hindersah *et al.* (2006) pada pot dengan tanah Inceptisols memperlihatkan bahwa *Azotobacter* dapat meningkatkan berat basah tajuk sebesar 10 %. Aplikasi di lapangan ternyata lebih meningkatkan hasil, karena percobaan pot tersebut dilakukan di ketinggian 730 m dpl yang kurang cocok untuk pertumbuhan optimal selada.

Keberadaan EPS telah diketahui dapat berperan dalam mengkhelat unsur hara mikro dan *trace element* dan meningkatkan mobilitasnya di dalam tanah (Chen *et al.*, 1995). Eksopolisakarida *Azotobacter* terbukti dapat mengadsorpsi Fe, Zn dan Cu (Emtiazi *et al.*, 2004), dan mengadsorpsi Cd tanah, memobilisasi Cd tanah serta meningkatkan serapan Cd selada (Hindersah, 2008). Meskipun efek EPS terhadap peningkatan mobilisasi dan serapan unsur hara mikro maupun *trace element* esensial belum banyak dipelajari, mekanisme kompleksasi

EPS-Cd di atas diduga dapat terjadi untuk unsur hara mikro esensial tersebut.

Cd Tersedia Tanah

Konsentrasi inokulan *Azotobacter* tidak berpengaruh terhadap Cd tersedia tanah (Tabel 2). *Azotobacter* sp. LKM6 dapat memproduksi EPS dalam jumlah yang signifikan (Hindersah *et al.*, 2006) dan menurut Chen *et al.* (1995), EPS berperan sebagai ligan organik yang memobilisasi logam berat. Kedua fakta tersebut dapat menyebabkan ketersediaan logam berat di dalam tanah meningkat.

Hasil penelitian yang terlihat pada Tabel 2 jelas bertolakbelakang dengan penelitian pot yang memperlihatkan peningkatan ketersediaan Cd tanah setelah aplikasi *Azotobacter* sp isolat LKM6 pada tanah Andisol dikontaminasi 10 mg kg⁻¹ Cd (Hindersah *et al.*, 2007a). Pada penelitian tersebut, inokulan diproduksi pada media Vermani yang menginduksi optimasi produksi EPS (Vermani *et al.*, 1997). Selain itu, pada penelitian pot, Cd tanah terakumulasi di zone perakaran sehingga perubahan kelarutan Cd oleh EPS *Azotobacter* menjadi lebih intensif. Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa inokulan cair *Azotobacter* yang diproduksi di dalam media Ashby dan diaplikasikan pada tanah terkontaminasi Cd ringan (1,17 mg kg⁻¹) tidak berpotensi meningkatkan ketersediaan Cd tanah.

Tabel 2. Pengaruh *Azotobacter* sp. isolat LKM 6 terhadap Cd tersedia tanah

Konsentrasi inokulan	Cd tersedia tanah (mg kg ⁻¹)
Kontrol (tanpa inokulan <i>Azotobacter</i>)	0,015
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 0,1 %	0,014
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 0,5 %	0,010
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 1 %	0,014
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 1,5 %	0,010

Cd Tajuk Tanaman

Tidak adanya peningkatan ketersediaan Cd tanah menyebabkan setiap perlakuan tidak menyebabkan perbedaan jumlah Cd yang diserap oleh tanaman. Tabel 3 memperlihatkan bahwa konsentrasi Cd di tajuk tanaman berkisar antara 2,25–2,50 mg kg⁻¹.

Tabel 3. Pengaruh *Azotobacter* sp. isolat LKM 6 terhadap Cd tajuk Selada

Konsentrasi inokulan	Cd tajuk (mg kg ⁻¹)
Kontrol (tanpa inokulan <i>Azotobacter</i>)	2,25
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 0,1 %	2,31
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 0,5 %	2,31
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 1 %	2,50
Dengan <i>Azotobacter</i> konsentrasi 1,5 %	2,30

Selada adalah tanaman akumulator Cd (Maier *et al.*, 2003) yang mengakumulasi sebagian besar Cd di bagian tajuk (Alloway 1995a). Pada tanah yang dikontaminasi dengan 10 mg kg⁻¹ CdCl₂, selada di dalam pot dapat mengakumulasi sampai 5,85 mg kg⁻¹ Cd tanpa memperlihatkan gejala keracunan (Hindersah *et al.*, 2007a). Nilai ambang batas Cd dalam tanaman yang dapat ditoleransi fungsi fisiologi tanaman adalah antara 5 – 10 mg kg⁻¹ (Mengel & Kirkby, 1987). Ambang batas Cd di sayuran daun untuk konsumsi yang direkomendasikan oleh *Codex Alimentarius Commission* FAO/WHO adalah 0,02 mg kg⁻¹ (Ittana, 2002). Namun perlu diperhatikan bahwa asupan maksimum Cd bagi manusia adalah 200 mg kg⁻¹ berat badan per hari (Alloway, 1995b) sehingga asupan Cd dari selada pada diet sehari-hari terhadap resiko keracunan Cd tidak signifikan. Namun demikian, kadar Cd di dalam selada ini dan juga di tanaman sayuran akumulator Cd seperti Brassicaceae perlu dicermati. Perhatian terhadap peningkatan serapan Cd di sayuran akumulator dapat menurunkan keamanan pangan.

SIMPULAN DAN SARAN

Inokulasi pupuk hayati *Azotobacter* sp. LKM6 dengan konsentrasi 0,1–1,5 % meningkatkan berat tajuk selada yang ditanam di lahan dengan 1,17 mg kg⁻¹ Cd. Namun demikian, tanpa maupun dengan inokulasi, tajuk selada mengandung 2,25–2,50 mg kg⁻¹ Cd yang lebih besar daripada ambang batas minimal Cd di sayuran daun menurut FAO/WHO sebesar 0,02 mg kg⁻¹.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami berterimakasih kepada Kepala Balai Besar Pelatihan Pertanian (BBPP) Kayu Ambon Lambang dan Kepala Inkubator Agribisnis BBPP atas izinnya menggunakan lahan di BBPP.

DAFTAR PUSTAKA

- Alami, Y, W Achouak, C Moral and T. Heulin, 2000. Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp. strain isolated from sunflower roots. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 3393–3398.
- Alloway, B.J. 1995a. The Origin of heavy metals in soils. Pp 38-57 in *Heavy Metals in Soils*. BJ Alloway (Ed). Blackie Academic and Professional, Glasgow.
- Alloway, B.J. 1995b. Cadmium. Pp 122 - 151 in *Heavy Metals in Soils*. BJ Alloway (Ed). Blackie Academic and Professional, Glasgow.
- Chen, J-H, DR Czajka, LW Lion, ML Shuler and WC Ghiorse. 1995. Trace metal mobilization in soil by bacterial polymers. *Environ. Health Perspect.* 103: 53–58.
- Chien, SH, G Carmona, LL Prochnow and ER Austin. 2003. Cadmium availability from granulated and bulk-blended phosphate-potassium fertilizers. *J. Environ. Qual.* 32: 1911–1914.
- Emtiazi, G, Z.Ethemadifar and MH Habibi. 2004. Production of extracellular polymer in *Azotobacter* and biosorption of metal by exopolymer. *Afr. J. Biotech.* 3:330-333.
- Hindersah, R dan T. Simarmata. 2004. Kontribusi rizobakteri *Azotobacter* dalam meningkatkan kesehatan tanah melalui fiksasi N₂ dan produksi fitohormon di rizosfir. *Jurnal Natur Indonesia.* 6:127–133
- Hindersah, R, dan AM Kalay. 2006. Akumulasi timah hitam dan kadmium pada tajuk selada setelah aplikasi *Azotobacter* dan lumpur IPAL. *J.Budidaya Pertanian* 2: 1–5
- Hindersah, R, DH Arief, S Soemitro and L Gunarto. 2006. exopolysaccharide extraction from rhizobacteria *Azotobacter* sp. *Proc. International Seminar IMTGT.* Medan, 22–23 Juni 2006. Pp 50–55.
- Hindersah, R, N Komaruddin and D Amelia. 2006. Cadmium accumulation on lettuce (*Lactuca sativa* L.) leaves following *Azotobacter* inoculation. *J. Budidaya Pertanian* 2: 86–91.
- Hindersah, R, R Sudirja dan MR Setiawati. 2007. Akumulasi kadmium pada tajuk tanaman selada dan pakcoy setelah inokulasi *Azotobacter* sp. Ckl-5. Makalah dipresentasikan pada Seminar Kebudayaan Indonesia Malaysia. Kuala Lumpur 29–31 Mei 2007.
- Hindersah, R, DH Arief, S Soemitro dan L Gunarto. 2007 a. Pengaruh inokulasi *Azotobacter* sp. LKM6 yang memproduksi eksopolisakarida dan aplikasi kadmium klorida terhadap kadmium di tanah dan tajuk selada *Prosiding Kongres Himpunan Ilmu Tanah Indonesia*, Jogja 5–7 Desember 2007. Hal 1140–1146.
- Hindersah, R. 2008. Transportasi Kadmium dari Tanah ke Pupus Tanaman Selada (*Lactuca Sativa* L.) oleh Eksopolisakarida *Azotobacter* sp. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Itanna, F. 2002. Metals in leafy vegetables grown in Addis Ababa and toxicological implication. *Ethiop. J. Health Dev.* 16: 295–302.
- Maier, EA, RD Matthews, JA McDowell, RR. Walden and BA. Ahnes. 2003. Environmental cadmium levels increase phytochelatin and glutathion in lettuce grown in a chelator-buffered nutrient solution. *J. Environ. Qual.* 32: 1356–1364.
- Mengel, K and EA Kirkby. 1987. *Principles of Plant Nutrition.* International Potash Institute. Bern.
- Sudirja, R dan R. Hindersah, 2007. Konsentrasi kadmium di lahan pertanian tanaman sayuran di Lembang Bandung. *J. Peng. Will.* 3: 6-10.
- Subba-Rao. 1982. *Biofertilizers in Agriculture.* Oxford dan IBH Publ.Co. New Delhi.
- Taller, BJ and TY Wong. 1989. Cytokinins in *Azotobacter vinelandii* Culture Medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 266–267.
- Vargas-Garcia, MC, MJ Lopez, MA Elorrieta, F Suarez and J. Moreno. 2003. Properties of polysaccharides produced by *Azotobacter vinelandii* cultured on 4-hydroxybenzoic acid. *J. Appl. Microbiol.* 94: 389–395.
- Vermani, MV, SM Kelkar and MY Kamat. 1997. Studies in polysaccharide production and growth of *Azotobacter vinelandii* MTCC 2459, a plant rhizosphere isolate. *Lett. Appl. Microbiol.* 24: 379–383.

