

POTENSI BERBAGAI JENIS RIZOBAKTERI SEBAGAI *PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA* (PGPR) DALAM MENINGKATKAN VIABILITAS DAN VIGOR BENIH KACANG TANAH

(Potential of Various Genus / Species of Rhizobacteria as PGPR in Increasing the Viability and Vigor of Arachis hypogaea L)

Nadia¹, Nurhayati¹, Syamsuddin^{1*}

Program studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala

*Corresponding author: syamsuddin@unsyiah.ac.id

Abstrak. Pemanfaatan mikroorganisme rizobakteri atau dikenal sebagai *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) untuk meningkatkan mutu benih melalui perlakuan benih yang diintegrasikan dengan mikroorganisme. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh penggunaan rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman pada perlakuan benih kacang tanah terhadap viabilitas dan vigornya. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Benih Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Darussalam Banda Aceh, mulai bulan januari hingga bulan maret 2022. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial. Terdapat 27 satuan percobaan yang meliputi 8 taraf rizobakteri dan 1 kontrol dengan 3 ulangan. Jenis rizobakteri II NA 4, II NA 13 dan III KB 3 berbeda nyata terhadap penggunaan rizobakteri jenis II NA 1, II NA 14, II KB 5, III KB 1, dan III SPA 1, namun berbeda tidak nyata terhadap perlakuan kontrol pada parameter potensi tumbuh maksimum (PTM), daya berkecambah (DB) dan keserempakan tumbuh (K_{ST}), hal ini dikarena setiap jenis rizobakteri memiliki peranan yang berbeda-beda, walaupun rizobakteri yang digunakan pada penelitian ini tidak terlalu berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, akan tetapi rizobakteri tersebut masih berpotensi untuk digunakan sebagai bioprotektan.

Kata kunci : Kacang tanah, rizobakteri, viabilitas dan vigor benih

Abstract. Utilization of rhizobacterial microorganisms or known as plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) to improve seed quality through seed treatment that is integrated with microorganisms. This study aims to determine the effect of seed treatment using plant growth promoting rhizobacteria on the viability and vigor of peanut seeds. This research was conducted at the Seed Science and Technology Laboratory of the Agrotechnology Study Program, Faculty of Agriculture, Syiah Kuala University, Darussalam Banda Aceh, from January to March 2022. This study used a completely randomized design (CRD) with a non-factorial pattern. The factors studied were 8 levels of rhizobacteria and 1 control with 3 replications so that there were 27 experimental units. The types of rhizobacteria II NA 4, II NA 13 and III KB 3 were significantly different from the use of rhizobacteria types II NA 1, II NA 14, II KB 5, III KB 1, and III SPA 1, but not significantly different from the control treatment in terms of maximum growth potential (PTM), germination capacity (DB) and growth simultaneity (KST), this is because each type of rhizobacteria has a different role, even though the rhizobacteria used in this study were not very acts as a plant growth promoter, but these rhizobacteria still have the potential to be used as bioprotectants.

Keywords: Peanut, rhizobacteria, seed viability and vigor

PENDAHULUAN

Kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) merupakan komoditas berharga dalam industri karena mengandung sumber protein nabati, sehingga kacang tanah banyak digunakan sebagai bahan pangan dalam industri makanan, yang menyebabkan permintaan kacang tanah meningkat setiap tahunnya. Namun karena rendahnya produktivitas kacang tanah dalam negeri, hal ini belum mampu memenuhi permintaan konsumen. Produktivitas kacang tanah yang rendah di Indonesia disebabkan masih digunakannya benih berkualitas rendah dalam teknik budidaya,

maka dengan menggunakan benih bermutu tinggi dan teknologi produksi yang tepat, produktivitas kacang tanah yang rendah dapat diatasi.

Pemanfaatan mikroorganisme rizobakteri atau yang dikenal dengan *Plant Growth Promoter Rizobacteria* (PGPR) merupakan salah satu teknik yang berpotensi untuk meningkatkan kualitas benih. PGPR membantu sintesis hormon pertumbuhan, memperbaiki nitrogen, dan melarutkan fosfat, yang semuanya berkontribusi pada pertumbuhan tanaman (Kang et al., 2007). Spesies *Bacillus* mampu menghasilkan IAA melalui sintesis (Ashrafuzzaman et al., 2009), Giberelin (Joo et al., 2005) dan sitokinin, yang juga mampu melarutkan fosfat (Park et al., 2009) dan fiksasi nitrogen (Mehrab et. al., 2010).

Teknologi peningkatan mutu benih melalui perlakuan benih yang diintegrasikan dengan mikroorganisme (kelompok rizobakteri) selain memacu pertumbuhan tanaman, pemanfaatan mikroorganisme non-antagonis dalam perlakuan benih juga bisa berperan ganda sebagai pengendalian hayati yang bisa memberikan perlindungan selama siklus tanaman melalui aktivitas enzim 1-aminocyclopropane-chemical 1-carboxylate (ACC). deaminase (Glick et al., 2007). Kemampuan rizobakteri tersebut berkaitan baik dengan fungsinya sebagai agen antagonis dalam menghambat patogen tanaman maupun fungsinya sebagai pemacu tumbuh tanaman (Sutariati et al., 2006: b; Syamsuddin., 2010) sehingga memberikan keuntungan ganda bagi tanaman.

Berdasarkan uraian sebelumnya, tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh penggunaan rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman pada perlakuan benih kacang tanah terhadap viabilitas dan vigornya.

METODE PENELITIAN

Laboratorium Ilmu dan Teknologi Benih Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala Darussalam Banda Aceh menjadi tempat penelitian ini. Penelitian dilakukan mulai Januari hingga Maret 2022.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial. Terdapat 27 satuan percobaan yang meliputi 8 taraf rizobakteri dan 1 kontrol dengan 3 ulangan. Jenis rizobakteri II NA 4, II NA 13 dan III KB 3 berbeda nyata terhadap penggunaan rizobakteri jenis II NA 1, II NA 14, II KB 5, III KB 1, dan III SPA 1.

Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang dibutuhkan yaitu autoclave, timbangan analitik, oven, spektrofotometer, ruang inkubasi, lampu spiritus, petridish, gelas ukur, kompor gas, pinset, beaker glass, aluminium foil, kapas steril, bak perkecambahan, erlenmeyer, jarum ose, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), serta lain-lain. Bahan yang dibutuhkan pada penelitian ini merupakan benih kacang tanah, isolat rizobakteri, media PDA (*Potato Dextrose agar*), alkohol 96%, plastic wrap, Tween 80 sebanyak 1 botol, akuades steril, spiritus, tanah, kompos, serta bahan-bahan lainnya yang dibutuhkan dalam penelitian ini.

Pelaksanaan Penelitian

a. Persiapan isolat Rizobakteri

Isolat rizobakteri dikembangkan di media PDA, kemudian masing-masing isolat diinkubasi selama 2x24 jam sampai koloni rizobakteri tumbuh sempurna. Koloni yang tumbuh

disuspensi dengan aquades hingga kerapatan populasi mencapai 109 cfu/ml (Bai et. al., 2002) atau sama dengan nilai pembacaan absorban OD600=0,192 pada spektrofotometer.

b. Perlakuan Benih menggunakan Rizobakteri

Benih kacang tanah didisinfektan dengan alkohol 96% selama 3 menit, lalu dibilas 3 kali dengan aquades dan dikering anginkan didalam LAFC selama 1 jam. Kemudian sebanyak 60 benih direndam dalam masing-masing suspensi isolat rizobakteri pada suhu 28 °C selama 24 jam. Setelah perendaman benih kembali dikering anginkan dan kemudian benih siap ditanam.

c. Pembuatan Media Tanam dan Penanaman

Median tanam yang digunakan yaitu tanah yang diayak terlebih dahulu dengan ayakan 9 mesh. Kemudian tanah disterilkan menggunakan *autoclave* selama 30 menit pada suhu 121 °C. Sesudah di *autoclave* dibiarkan sampai suhunya turun selama 24 jam. Kemudian tanah dimasukkan ke dalam pot plastik. Benih ditanam dalam pot yang sudah terisi dengan media tanam dengan jumlah 20 benih setiap perlakuan dengan tiga kali ulangan. Perkecambahan dilakukan selama 14 HST.

Pengamatan

a. Potensi Tumbuh Maksimum (PTM)

Potensi tumbuh maksimum ditentukan berdasarkan total benih yang berkecambah pada pengamatan terakhir umur 14 HST. Ketika akar atau plumula muncul melalui kulit benih, maka benih dinyatakan sudah berkecambah. Rumus untuk menentukan nilai maksimum dari potensi pertumbuhan adalah:

$$PTM (\%) = \frac{\text{Jumlah benih yang berkecambah}}{\text{Jumlah benih yang dikecambahkan}} \times 100\%$$

b. Daya Berkecambah (DB)

Jumlah Kecambah Normal (KN) pengamatan ke-I (7 HST) dan ke-II (14 HST) digunakan untuk menghitung daya berkecambah. Bila akar primer dan sekunder telah tumbuh secara normal, serta plumula berkembang dengan baik dan mempunyai 2 daun yang terlepas dari kulit benihnya, maka benih dikatakan sudah berkecambah normal. Berikut rumus perhitungan daya berkecambah:

$$DB (\%) = \frac{\text{Jumlah KN ke-I} + \text{Jumlah KN ke-II}}{\text{Jumlah benih yang dikecambahkan}} \times 100\%$$

c. Indeks Vigor (IV)

Indeks vigor ditentukan berdasarkan jumlah KN pengamatan ke-I (7 HST). Berikut rumus untuk menentukan indeks vigor:

$$IV (\%) = \frac{\text{Jumlah KN ke-I}}{\text{Jumlah benih yang dikecambahkan}} \times 100\%$$

d. Keserampakan Tumbuh (K_{ST})

Keserampakan tumbuh ditentukan berdasarkan jumlah kecambah normal (KN) pada umur 10 HST, atau hari antara pengamatan KN ke-I dan KN ke-II. Berikut adalah rumus untuk menentukan keserampakan tumbuh:

$$K_{ST} (\%) = \frac{\text{Jumlah KN hari ke-10 HST}}{\text{Jumlah benih yang dikecambahkan}} \times 100\%$$

e. Kecepatan Tumbuh (K_{CT})

Kekuatan tumbuh benih digambarkan oleh kecepatan pertumbuhan. Nilai K_{CT} ditentukan berdasarkan Jumlah total kecambah normal yang ditambahkan setiap hari. Dengan menggunakan rumus berikut, pengamatan harian dilakukan selama waktu perkecambahan (14 HST):

$$K_{CT} = \sum_0^{tn} \frac{N}{t}$$

Keterangan: t = waktu pengamatan; N = % KN setiap waktu pengamatan; tn = waktu pengamatan akhir

f. Waktu yang diperlukan untuk mencapai 50% total kemunculan kecambah (T_{50})

T_{50} ditentukan oleh tingkat perkecambahan harian hingga umur 14 HST. Berikut rumus yang dapat digunakan untuk menentukan T_{50} :

$$T_{50} (\text{hari}) = t_i + \left(\frac{(n_{50} - n_i)}{(n_j - n_i)} \right) (t_j - t_i)$$

Keterangan: T_i = hari batas bawah sebelum mencapai 50% perkecambahan; t_j = hari batas atas sesudah 50% perkecambahan; n_{50} = jumlah benih yang sudah berkecambah 50%; n_j = jumlah kecambah batas atas sesudah perkecambahan 50%; dan n_i = batas bawah sebelum perkecambahan 50%.

Analisa Statistik

Metode varians (ANOVA) digunakan untuk menghitung dan menganalisis data penelitian, yang kemudian dilakukan uji tambahan dengan Duncan New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf signifikan 5% apabila uji F memperlihatkan perbedaan yang signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis ragam memperlihatkan perlakuan benih kacang tanah menggunakan rizobakteri berbeda nyata pada parameter potensi tumbuh maksimum (PTM), daya berkecambah (DB), keserempakan tumbuh (K_{ST}), tetapi berbeda tidak nyata terhadap parameter indeks vigor (IV), kecepatan tumbuh (K_{CT}) dan (T_{50}).

Berdasarkan parameter potensi tumbuh maksimum (PTM), daya kecambah (DB), indeks vigor (IV), keserempakan tumbuh (K_{ST}), kecepatan tumbuh (K_{CT}), dan T_{50} , rata-rata nilai viabilitas dan vigor dari benih kacang tanah yang diberi perlakuan dengan rizobakteri ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata nilai parameter mutu benih pada berbagai perlakuan rizobakteri (Transformasi Arc sin $\sqrt{x\%}$)

Perlakuan	Parameter					
	PTM (%)	DB (%)	IV (%)	K_{ST} (%)	K_{CT} (%)	T_{50} (Hari)
KONTROL	74,62 b	61,26 b	60,30	61,26 b	28,41	2,18

II NA 1	14,79 a	12,70 a	12,70	12,70 a	11,84	1,20
II NA 4	40,51 ab	33,17 ab	21,52	30,29 ab	22,39	2,69
II NA 13	38,93 ab	36,92 ab	25,00	34,81 ab	22,11	2,67
II NA 14	18,57 a	8,85 a	8,85	8,85 a	10,73	2,40
II KB 5	34,31 a	23,85 a	23,85	23,85 a	13,00	2,60
III KB 1	21,34 a	9,97 a	7,01	7,01 a	14,75	3,27
III KB 3	45,66 ab	35,38 ab	29,14	35,38 ab	25,81	2,62
III SPA 1	30,08 a	21,04 a	14,79	21,04 a	17,01	2,71

Keterangan : Angka yang dikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata menurut uji (DNMRT) pada taraf 5%.

Tabel 1. memperlihatkan bahwa rata-rata nilai parameter potensi tumbuh maksimum benih kacang tanah pada perlakuan kontrol yaitu 74,62% yang berbeda nyata terhadap penggunaan rizobakteri jenis II NA 1, II NA 14, II KB 5, III KB 1, dan III SPA 1, namun berbeda tidak nyata dengan penggunaan rizobakteri jenis II NA 4, II NA 13, dan III KB 3. Hal yang sama juga ditunjukkan pada pengamatan daya berkecambah dan keserempakan tumbuh dimana nilai rata-rata perlakuan kontrol pada kacang tanah memiliki nilai tertinggi yaitu 61,26%.

Sementara hal yang berbeda ditunjukkan pada parameter indeks vigor, kecepatan tumbuh dan T50, dimana ketiga parameter tersebut perlakuan benih menggunakan rizobakteri dengan perlakuan kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik, akan tetapi nilai rata-rata perlakuan kontrol cenderung memberikan nilai lebih baik jika dibandingkan dengan perlakuan rizobakteri pada tolok ukur indeks vigor, kecepatan tumbuh dan T50.

Bedasarkan hasil analisis data yang diamati memperlihatkan bahwa perlakuan benih kacang tanah dengan berbagai jenis rizobakteri dan kontrol memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam memperbaiki viabilitas dan vigor benih, dimana perlakuan kontrol menghasilkan nilai yang terbaik hampir disetiap parameter yang diamati jika dibandingkan dengan perlakuan rizobakteri, hal ini diduga berhubungan ketidak mampunya rizobakteri dalam memproduksi zat pengatur tumbuh seperti IAA yang merupakan syarat utama dari peranan rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman. Hal yang sama juga pernah dinyatakan oleh Ashrafuzzaman. et al., (2009), perbedaan kemampuan tersebut diduga berkaitan dengan kemampuan isolat dalam memproduksi IAA, giberelin (Joo. et al.,2005) dan sitokinin, disamping kemampuannya melarutkan fosfat, dan memfiksasi nitrogen (Timmusk. et al., 2005).

Aswar, (2017) menyatakan bahwa salah satu kegunaan hormon IAA bagi tanaman dapat meningkatkan perkembangan sel yang diperlukan dalam proses perkecambahan benih. Rizobakteri penghasil IAA seperti *Nicerica* sp., *P. fluorescens* dan *Bacillus* sp., memiliki kemampuan mengkolonisasi perakaran lebih cepat dan dengan mudah melakukan metabolisme senyawa organik yang dihasilkan akar tanaman untuk membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman (Lugtenberg et. al., 2001).

Menurut temuan penelitian ini, isolat rizobakteri yang digunakan sangat menentukan terhadap peningkatan pertumbuhan tanaman. Hal ini berkaitan dengan efektivitas berbagai isolat rhizobakteri sebagai pemacu pertumbuhan tanaman akan ditentukan oleh seberapa baik mereka beradaptasi dengan tanaman inangnya. Rhizobakteri secara kompetitif mengkolonisasi akar dan menggunakan eksudat akar sebagai pemacu pertumbuhan (Pieterse et al., 1998).

Menurut Lugtenberg et al., (2001) kapasitas rizobakteri untuk mengkolonisasi akar merupakan tahapan penting dalam fungsinya sebagai pemacu pertumbuhan tanaman. Jumlah asam amino triptofan yang berasal dari eksudat akar tanaman untuk merangsang produksi IAA oleh rizobakteri dipengaruhi oleh kemampuan kolonisasi akar tanaman. Rizobakteri hanya dapat menghasilkan IAA jika sistem akar mengandung asam amino triptofan dalam jumlah yang cukup (Konvchenko et al., 2005).

Dari temuan ini juga dapat dikatakan bahwa kelompok rizobakteri yang tidak berperan sebagai agen pemacu pertumbuhan tanaman sebenarnya masih dapat dimanfaatkan sebagai bioprotektan. Kelompok rizobakteri ini diduga dapat menghasilkan enzim degradasi dinding sel seperti kitinase, selulase, lipase, dan protease serta mengeluarkan metabolit sekunder antimikroba seperti antibiotik dan hidrogen sianida (HCN) (Syamsuddin et al., 2007). Fernando et al., (2005), menyatakan bahwa mikroba antagonis memproduksi senyawa antibiotik, racun, kompetisi untuk ruang, nutrisi, siderofor, dan hidrogen sianida (HCN) merupakan sarana penghambatan terhadap patogen.

SIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian ini bisa disimpulkan bahwa tidak semua jenis rizobakteri dapat berperan dengan baik sebagai *Plant Growth Promoter Rizobacteria* (PGPR), hal ini bisa dilihat pada beberapa parameter yang diamati, dimana pada parameter potensi tumbuh maksimum (PTM), daya berkecambah (DB) dan keserempakan tumbuh (K_{ST}). jenis rizobakteri II NA 4, II NA 13 dan III KB 3 memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap penggunaan rizobakteri jenis II NA 1, II NA 14, II KB 5, III KB 1, dan III SPA 1, namun berbeda tidak nyata terhadap perlakuan kontrol, hal ini karena setiap jenis rizobakteri memiliki peranan yang berbeda-beda, walaupun rizobakteri yang digunakan pada penelitian ini tidak terlalu berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, akan tetapi rizobakteri tersebut masih berpotensi untuk digunakan sebagai bioprotektan.

Saran

Sehubungan dengan hasil penelitian ini, maka perlu dilakukan penelitian lebih mendalam terhadap analisis kemampuan rizobakteri yang berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan sebagai agen bioprotektan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashrafuzzaman, M., F.A. Hossen, R. Ismail, M.A. Hoque, M.Z. Islam, S.M. Shahidullah, S. Meon. 2009. Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *Afr. J. Biotech.* 8:1247-1252.
- Aswar, D., 2017. Pengaruh Perlakuan Benih Dengan Menggunakan Agens Biokontrol Terhadap Pengendalian Penyakit *Rhizoctonia solani* Pada Pertumbuhan Bibit Cabai Merah. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian Unsyiah.* 2(4). pp 30-44
- Bai, Y., Pan. B., Charles. T.C., Smith. D.L. 2002. Co-Inoculation dose and root zone temperature for plant growth promoting *rhizobacteria* on soybean (*Glycine max* L.Merr) grown in soil less media. *Soil Biol Biochem.*

- Fernando, D., Nakkeeran, dan Z. Yilan. 2005. Biosynthesis of antibiotics by PGPR and its relation in biocontrol of plant disease.
- Glick, B.R. Glick, Z. Cheng, J. Czarny, J. Duan., 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase-containing soil bacteria. *Eur J Plant Pathol*, 119 (2007), pp. 329-339
- Joo, G.J., Y.M. Kim, J.T. Kim, I.K. Rhee, J.H. Kim, I.J. Lee. 2005. Gibberellins-producing rhizobacteria increase endogenous gibberellins content and promote growth of red peppers. *J. Microbiol.* 43:510-5.
- Kang, S.H., H.S. Cho, H. Cheong, C.M. Ryu, J.F. Kim, S.H. Park. 2007. Two bacterial entophytes eliciting both plant growth promotion and plant defense on pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Microbiol. Biotechnol.* 27:96-103.
- Kravchenko LV, Azarova TS, Makarova NM, Tikhonovich IA. 2005. The effect of tryptophan present in plant root exudates on the phytostimulating activity of rhizobacteria. <http://www.kluweonline.com/article.asp?PIPS=488860-&PDF=1>
- Lugtenberg, B. J., T. F. Chin-A-Woeng, G. V. Bloemberg. 2001. Mikrobe-plant interactions: principles and mechanism. *Atonie van Leeuwenhoeck*, 81: 373-383.
- Mehrab, Y. H., A. Rahmani, G. Noormohammadi, A. Ayneband. 2010. Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. *J. Plant Nutr.* 33:1733- 1743.
- Park, K.H., C.Y. Lee, H.J. Son. 2009. Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. *Lett. Appl. Microbiol.* 49:222-228.
- Pieterse CMJ, van Wees SCM, van Pelt JA, Knoester M, Laan R, Gerrits H, Weisbeek PJ, van Loon LC. 1998. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant cell.* 10:1571-1580.
- Sutariati, G.A.K., Widodo, Sudarsono, S. Ilyas. 2006. Pengaruh perlakuan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* terhadap pertumbuhan bibit tanaman cabai. *Bul. Agron.* 34:46-54.
- Syamsuddin. 2010. *Perlakuan benih untuk pengendalian penyakit busuk phytophthora, peningkatan hasil dan mutu benih cabai merah (Capsicum annuum L)*. Disertasi. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Syamsuddin., S. Ilyas., Alfizar., B. Amin. 2007. Pengembangan Biological Seed Treatment untuk Pengendalian Busuk Phytophthora pada Cabai Merah (*Capsicum annuum* L.). Hibah Bersaing XIV Perguruan Tinggi.
- Timmusk, S., N. Grantcharova, E.G.H. Wagner. 2005. *Paenibacillus polymyxa* invades plant roots and forms biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:7292- 7300.