

トウガラシ根部 (*Capsicum annuum* L.) におけるエンドファイト細菌の
分離および同定ならびに真菌 (*Fusarium oxysporum*) の増殖抑制

卒業論文

作成者 :

SHELA FAHDILA

158700016



生物学科

生物学部

メダン・エリア大学

2019 年

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Document Accepted 13/5/26

Access From (repositori.uma.ac.id)13/5/26

トウガラシ根部 (*Capsicum annuum* L.) におけるエンドファイト細菌の分離および
同定ならびに真菌 (*Fusarium oxysporum*) の増殖抑制

卒業論文

メダン・エリア大学生物学部において学士号を取得するための要件の一つとして提
出するもの

作成者 :

SHELA FAHDILA

158700016

生物学科

生物学部

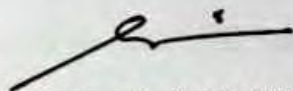
メダン・エリア大学

2019 年

Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Pada Akar Cabai
(*Capsicum annuum* L.) Untuk Menghambat Pertumbuhan
Jamur (*Fusarium oxysporum*)

Nama : Shela Fahdila
NPM : 158700016
Fakultas : Biologi

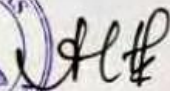
Disetujui Oleh
Komisi Pembimbing



Ferdinand Susilo S.Si M.Si
Pembimbing I



Abdul Karim S.Si M.Si
Pembimbing II



Mufti Sudibyo, M.Si
Dekan



Dra. Sartini, M.Sc
Ka. Prodi/WD 1

Tanggal Lulus : 27 september 2019

HALAMAN PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi yang saya susun, sebagai syarat memperoleh gelar sarjana merupakan hasil karya tulis saya sendiri. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan skripsi ini yang saya kutip dari hasil karya orang lain telah dituliskan sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah, dan etika penulisan ilmiah.

Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi-sanksi lainnya dengan peraturan yang berlaku, apabila dikemudian hari ditemukan adanya plagiat dalam skripsi ini.

Medan, 8 oktober 2019



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Medan Area, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Shela Fahdila
NPM : 158700016
Program Studi : Biologi
Fakultas : Biologi
Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Medan Area **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Pada Akar Cabai (*Capsicum annuum* L.) Untuk Menghambat Pertumbuhan Jamur (*Fusarium oxysporum*). Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Medan Area berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan
Pada tanggal : 8 oktober 2019
Yang menyatakan


(Shela Fahdila)

要旨

本研究は、赤唐辛子 *Capsicum annuum* の根部からエンドファイト細菌分離株を取得し、病原性真菌 *Fusarium oxysporum* の増殖を抑制する能力を明らかにすることを目的とした。本研究では、実験室規模の記述的方法を用いた。赤唐辛子 *Capsicum annuum* の根部からの分離結果として、A1 および A2 のコードを付した二種類の異なる分離株コロニーが確認された。これら二つのエンドファイト細菌分離株は、*Bacillus* 属であると推定された。両分離株の拮抗作用試験の結果、これらのエンドファイト細菌は病原性真菌 *Fusarium oxysporum* の増殖を抑制する能力を有することが示され、このことは形成された阻止帯の直径から確認することができた。

キーワード：エンドファイト細菌、赤唐辛子、病原性真菌 *Fusarium oxysporum*

ABSTRACT

This study aimed to obtain endophytic bacterial isolates from Capsicum annuum root and determine its ability to inhibit Fusarium oxysporum, a pathogenic fungi. The research used laboratory scale descriptive method. The isolates contained two different colonies i.e A1 & A2. Bacterial colony characteristic result presented that the bacterial belong to the genus of Bacillus and has the ability in inhibiting the growth of Fusarium oxysporum which was measured by formed inhibition zones.

Keywords : *Endophytic bacterial, Capsicum annuum, Fusarium oxysporum*

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan Kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala karunia-Nya sehingga skripsi ini berhasil diselesaikan. Adapun judul yang telah penulis sajikan adalah mengenai "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Pada Akar Cabai (*Capsicum annum* L.) Untuk Menghambat Pertumbuhan Jamur Patogen (*Fusarium oxysporum*)".

Terima kasih penulis sampaikan kepada bapak Ferdinand Soesilo S.Si M.Si dan bapak Abdul Karim S.Si M.Si selaku pembimbing serta ibu Rahmiati S.Si dan ibu Ida Fauziah yang telah banyak memberikan saran. Serta ucapan terima kasih penulis kepada kakak/abang, dan teman-teman mahasiswa/i Universitas Medan Area yang juga telah ikut membantu dalam penulisan skripsi ini. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada ayah, ibu, serta seluruh keluarga atas segala doa dan perhatiannya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat baik untuk kalangan pendidikan maupun masyarakat. Akhir kata penulis ucapkan terima kasih.

Medan, 12 Oktober 2019

Penulis

Shela Fandila

目次 (DAFTAR ISI)

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Document Accepted 13/5/26

Access From (repositori.uma.ac.id)13/5/26

第1章 序論

1.1 の背景

赤唐辛子 (*Capsicum annuum* L.) は、日常生活において重要な野菜の一つである。

赤唐辛子は、料理の調味料など様々な加工品に広く利用されている。また、調味料として消費されるだけでなく、伝統的な薬の原料としても使用されている。

赤唐辛子は、タンパク質、脂質、炭水化物、カルシウム、リン、鉄、ビタミンA、C、E、およびカプサイシン、フラボノイド、精油などのアルカロイド化合物を含み、これらは血液循環を促進する可能性があるため、人々に非常に好まれている (Prayudi, 2010)。

人口の増加に伴い、赤唐辛子の需要は年々高まっているが、生産量は依然として需要を満たしていない。中央統計局 (2014) によると、北スマトラ州における赤唐辛子の生産量は147,810トンに達した。2013年と比較して、生産量は14,123トン減少した。赤唐辛子の生産量が少ないのは、唐辛子の生育に影響を与える要因の一つである害虫や病気の影響によるものと考えられる。Herwidyatiら (2013) によると、赤唐辛子の生育の成否は、非生物的要因や生物的要因などいくつかの要因によって左右される。唐辛子の生育に影響を与える非生物的要因としては、気温や降雨量などが挙げられる。一方、赤唐辛子の生育生産性に影響を与える生物的要因としては、ウイルス、細菌、および真菌が挙げられる。

真菌によって引き起こされる病気の一つに、*Fusarium oxysporum*という真菌によるフザリウム萎凋病がある。この真菌の感染は、赤唐辛子の生産量減少を引き起こす制限要因の一つとなっている。*Fusarium oxysporum*の拡散は非常に速く、萌芽管や

菌糸を用いて植物の根に感染することで、他の植物へも広がる可能性がある。植物の根は、根組織を介して直接、あるいは側根や傷口を通じて感染し、その後、維管束内に定着・増殖する。植物の根に侵入した後、菌糸は根の皮層組織に達するまで増殖する。菌糸が木部 (xylem) に到達すると、木部の導管を感染させるまで増殖する。木部を感染した菌糸は、植物の他の部位へと運ばれ、植物内の養分や水分の循環を妨げ、植物を萎れさせる原因となる (Semangun, 2007)。このフザリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*) は、リコマラシンと呼ばれるポリペプチドを形成し、これが植物の細胞膜の透過性を阻害する (Susetyo, 2010)。唐辛子の植物は通常、下部の葉から萎れ始め、葉脈が黄色くなる。この感染が進行し続けると、赤唐辛子の植物は枯死する。したがって、適切に対処しなければ、赤唐辛子農家の生産物に損失をもたらす可能性がある (Huda, 2010)。

農家がこの問題に対処するために一般的に用いる手段は化学殺菌剤の使用であるが、これは 周辺環境に悪影響を及ぼす (Ariyanti, 2017)。化学殺菌剤の使用における欠点は、価格が高いことに加え、標的以外の生物を死滅させてしまう可能性があり、また、野菜に付着した殺菌剤の化合物が野菜と共に摂取されると、生殖器疾患などの健康被害を引き起こす恐れがあることである (Melliawati et al., 2006)。より環境に優しい代替手段として、赤唐辛子の根から得られた内生細菌の利用が挙げられる。プロセスが容易で比較的安価であることに加え、内生細菌は環境に優しい効果をもたらし、植物の肥沃度を高め、宿主を他の病原菌の攻撃から保護する (Tan and Zou, 2001)。

先行研究に基づき、唐辛子植物を害する真菌に対する内生細菌による増殖抑制に関する研究が、いくつかの研究者によって行われてきた。Fitriyah (2015) は、唐辛

子の根に存在する内生細菌が、真菌*Colletotrichum capsici*の増殖を抑制できることを報告している。そこで、本研究では、唐辛子の根に存在する内生細菌を分離・同定し、異なる病原菌である*Fusarium oxysporum*の増殖を抑制する効果について検討した。

1.2 の研究課題

以上の背景に基づき、本研究の課題は、唐辛子の根に存在する内生細菌が病原菌*Fusarium oxysporum*の増殖を抑制できるかどうかである。

1.3 研究の目的

本研究の目的は、トウガラシの根から内生細菌を分離・単離し、その内生細菌単離株が病原菌フザリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*) の増殖を抑制する能力を明らかにすることである。

1.4 本研究の意義

本研究は、唐辛子の根から得られた内生細菌の種類、および病原菌フザリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*) の増殖を抑制する内生細菌の能力に関する情報とデータを提供することが期待される。

第2章 文献レビュー

2.1 赤唐辛子 (*Capsicum annuum* L.) の歴史

唐辛子 (*Capsicum annuum* L.) は、アメリカ大陸の熱帯および亜熱帯地域、特に南米のコロンビア原産である。唐辛子は、ペルーの歴史的遺跡や、メキシコのテワカンにある洞窟内で紀元前5000年以上に遡る種子の残骸から初めて発見された。唐辛子は16世紀にアジアへ交易され、辛味のある種は東南アジアで最も広く分布している。赤唐辛子は約450~500年前にポルトガル人によってインドネシアに持ち込まれた。赤唐辛子は急速に適応し、インドネシアの先住民に受け入れられ、重要な野菜の一つとなった。Capsicum属からは100種以上が同定されている。そのうち、*C. annuum*、*C. chinense*、*C. frutescens*、*C. pubescens*、および*C. baccatum*の5種が栽培されている (Barney, 2001)。

赤唐辛子 (*Capsicum annuum* L.) は、販売価格が高いため、インドネシアの農家によって多く栽培されている野菜の一つである。唐辛子には、タンパク質、脂質、炭水化物、カルシウム、リン、鉄、ビタミンC、A、Eといった人間の健康にとって非常に重要な栄養素に加え、カプサイシン、フラボノイド、精油などのアルカロイド化合物が豊富に含まれている。唐辛子の果実にはカプサイシンが多く含まれており、これが辛味の原因となるほか、血液循環を促進する働きもある (Nurahmi, *et al.* 2011)。

2.1.1 (唐辛子) の分類と形態

分類 学名 赤 赤 (*Capsicum annum* L.) に関するCronquist (1981)による分類は以下の通りである：

界 : 植物界
門 : 種子植物門
綱 : 双子葉植物
目 : ナス目
科 : ナス科
属 : トウガラシ属
種 : *Capsicum annum* L.

唐辛子の植物には、根、茎、葉、花、果実、種子といった各部位があります。

1. 根

唐辛子は、直根を持つ低木状の植物です。根系はやや広がっており、長さは約25～35cmです。この根は、土壌から水分や養分を吸収するほか、茎を支える役割も果たします。唐辛子の根は土壌内に垂直に伸び、植物を支える役割を果たす。主根から側根が伸び、側根は土壌内で水平に伸び、さらにそこから細く密集した根毛が形成される。

2. 茎

唐辛子の植物の茎は、主茎と側枝の2種類に分けられる。唐辛子の主茎は直立しており、基部は木質化しており、色は緑褐色で、長さは20～28cmである。分枝茎は緑色で、長さは5～7cmである。

3. 葉

この植物の葉は細長い楕円形で先端が尖っており、一般に「長楕円形 (oblongus acutus)」と呼ばれる。葉脈は羽状で、葉脈が発達している。葉の表側は濃い緑色で、裏側は淡い緑色である。葉の長さは9~15cm、幅は3.5~5cmである。唐辛子の葉は単葉で、葉柄があり、互生する。葉身は卵形から楕円形で、先端は鋭く尖り、基部は先細り、縁は平らで、羽状脈を持つ。

4. 花

唐辛子の花は小さなトランペット状をしており、花の色は白ですが、紫色のものもあります。花柄、花托、萼、花冠、雄蕊、雌蕊から構成されているため、完全花と呼ばれます。また、雄蕊と雌蕊が1つの花に共存しているため、雌雄同体花とも呼ばれます。唐辛子の花は単花で、星形をしており、白色で、葉の腋から出る。花は下向きに垂れ下がる。花冠は白色で、萼片は5~6枚、長さは1~1.5cm、雌しべの頭部は黄色である。

5. 果実と種子

唐辛子の果実は細長い円錐形で、直線的または湾曲しており、先端が尖っている。表面は滑らかで光沢があり、直径1~2cm、長さ4~17cmで、短い柄がある。若い果実は濃い緑色だが、熟すと鮮やかな赤色になる。若い種子は黄色で、成熟すると茶色になり、扁平な形で、直径は約4mmである。果実の辛味は食欲を増進させる。

2.1.2 唐辛子の生育条件

唐辛子の生育において、気温は非常に大きな影響を及ぼします。唐辛子にとって理想的な気温は24~28° Cです。15° Cや32° Cを超えるような特定の気温では、品質の

劣る唐辛子が実ります。気温が低すぎると生育が阻害されます。唐辛子は、十分な灌漑が定期的に行われれば、乾季でも生育可能です。唐辛子は、品種によっては低地から高地まで、さまざまな標高でよく育ちます。唐辛子の生産拠点の大部分は、海拔1,000~1,250メートルの高地に位置しています。

唐辛子がよく育つための条件は、腐植質が豊富で肥沃かつ水はけの良い土壌であり、土壌pHが5~6であることです。唐辛子は、熟した果実または赤くなった果実から採取した種子で繁殖させます。その種子は事前に調整されます。生育に適した温度は16~23° Cです。

2.1.3 唐辛子の効能と成分（ ）

唐辛子には、体の衰えを遅らせ、寿命を延ばすといった効能があります。さらに、唐辛子は体内の反応を適切に調整する働きもあります。唐辛子は心臓を含むすべての臓器を強化し、血液循環を促進します。唐辛子には、タンパク質、脂質、炭水化物、リン、ビタミンなど、人間の健康に不可欠な栄養素が含まれています。また、唐辛子には *カプサイシン*、フラボノイド、精油などのアルカロイド化合物も含まれています。このカプサイシンこそが、唐辛子の種子や胎座部分に含まれる辛味の原因です。この辛味は、血液循環を調整する効果があります。カプサイシン以外にも、唐辛子には肺から粘液を排出させる粘液溶解作用のある物質が含まれています。そのため、唐辛子は気管支炎患者のサポートや、インフルエンザ、副鼻腔炎、喘息の予防において、粘液の排出を助けることができます。

2.2 フザリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*) の説明

2.2.1 フザリウム・オキシスポラム (*Fusariumxml-ph-0000@deep1.internal*) の分類

Alexopoulos and Mims (1979) によると、フザリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*) の分類は以下の通りです：

- 界 : 菌界
- 門 : 真菌界
- 綱 : 二次菌門
- 目 : モニリア目
- 科 : テベルキュラリア科
- 属 : フザリウム
- 種 : フザリウム・オキシスポラム

2.2.2 フザリウム・オキシスポラムの形態

フザリウム・オキシスポラムは、隔壁のある菌糸を持つ真菌である。この真菌のコロニー表面は紫がかった白色で、縁は鋸歯状であり、表面は粗く繊維質で波打っている。成熟した菌糸にはクラミディオスポラが形成される。分枝した分生子柄を持ち、その大分生子はコイル状で、柄が短く、しばしば対になって生じる。フザリウム・オキシスポラムは、以下の3種類の胞子を形成する無性生殖を行う：

1. マクロコンディオスポア

マクロコンディウムは、コイル状に長く湾曲した形をしており、無色で、両端は三日月のように細くなっている。3~5の隔壁からなる。

2. ミクロコンディウム

ミクロコンディウムは、無色で楕円形または卵形の単細胞または二細胞の孢子である。

3. クラミドスポア

クラミドスポラは、菌糸内または菌糸の先端に見られる球形の孢子である。環境条件が不適切な場合に形成され、生成されたクラミドスポラは休眠状態となる。

この菌は、糸状の構造を持つ孢子から生育し、隔壁を持つものと持たないものがある。個々の糸は菌糸と呼ばれ、広範囲に広がる糸の塊は菌糸体と呼ばれる。菌糸体は、栄養分の継続的な吸収に関与する構造であり、これにより菌は成長し、最終的には生殖孢子を形成する特殊な菌糸を生み出す (Saragih 2009)。菌糸体は主に細胞内、特に導管内に存在するが、細胞間、すなわち表皮内や感染部位付近のパラメニウム組織内にも形成される。

フザリウムの生活環には、病原性段階と腐生性段階の2つの段階がある。病原性段階では、フザリウムは宿主植物の根の傷口から侵入し、植物組織内で増殖する寄生者として生息する。一方、腐生性段階では、土壌や植物残渣の中で腐生菌として生息し、他の植物に病気を引き起こすための感染源となる。

病原体は主に傷ついた根の部分から感染し、傷が閉じた後は、病原体はパラメニウ

ム組織内で増殖し、その後定着して維管束内で増殖する。この病気は、すでに感染した苗、水、風、感染した土壌、昆虫による傷、農具などを通じて伝染する可能性がある。土壌中では、フザリウムは宿主ではない雑草に寄生して生存することができる。傷ついた根の先端は、感染の主な初期部位である (Wahyudi, 2011)。

フザリウム病は通常、気温と土壌温度が高い真夏に発生する。この病気の初期症状は、最も古い葉が黄色く変色することである。感染した葉は通常、しおれて乾燥するが、植物に付着したままになる。しおれはより若い葉の部分へと広がり、植物はすぐに枯死する。茎の外側は硬く緑色のままですが、植物の維管束組織には、茶色の細かい病斑が生じます。この病気の進行は、葉の黄変、萎れ、そして枯死という順序で起こります。植物の成長は阻害され、次第に萎れ、最終的に枯死し、茶色になった葉が茎の付け根に残る。

CookとBaker (1983) によると、フザリウムによる病害は、酸性の砂質土壌でよく発生する。水はけが良く、乾燥し、通気性の良い砂質土壌は、土壌細菌よりもフザリウムに適している。逆に、アルカリ性の粘土質土壌はフザリウムによる病害の発生に最も不向きである。粘土質土壌は湿った状態が持続するため、この菌の発育を阻害するからである。唐辛子におけるフザリウム萎凋病による被害は、発芽期から成熟期までの全生育期間にわたり植物を侵すため、甚大である。この病気は、最大50%の収量損失や不作を引き起こす可能性がある。この病原体による被害は、乾燥した土地に植えられた作物においてさらに増大する可能性がある。一般的に、フザリウム萎凋病の防除には作物の輪作や化学農薬の使用が行われてきたが、病原体は土壌中で宿主がいなくても長期間生存し続けるため、輪作はしばしば効果的ではない。合成殺菌剤による防除は一定の効果があるものの、その使用の一部は環境に悪影

響を及ぼし、また繰り返し処理が必要となるため、病原体に対する耐性を引き起こす可能性がある (Khaeruni and Gusmawati, 2012)。しかし、農家の防除習慣は依然として化学農薬を主な防除手段としており、これが環境に悪影響を及ぼしている (Sutarini, *et al.* 2015)。

したがって、生態系の保全を維持しつつ、より安全な防除法を探る必要がある。その防除の目的は、悪影響を及ぼすことなく目標を達成できるものである。現在、生物学的防除が広く検討され始めている。土壌伝染性病害に対する生物学的防除の代替手段の一つとして、微生物の利用が挙げられる (Khaeruni and Gusmawati, 2012)。

*Fusarium oxysporum*の拡散はpH値、すなわち*Fusarium oxysporum*が成長し活動できる土壌の酸性度によって影響を受ける。一方、土壌内の温度は地表の気温と密接に関連している。気温が低いと土壌温度も低くなり、その逆も同様である。温度は植物の成長に影響を与えるだけでなく、病害の発生にも影響を及ぼす。フザリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*) は、土壌温度が10~24° Cの範囲であれば生存可能であるが、これは菌株によっても異なる (Soesanto and Termorshuizen, 2001)。このフザリウム萎凋病の原因病原菌は、過度に湿潤または水浸しの土壌、高い空気湿度、および低い土壌pH条件下で急速に増殖する (Tjahjadi, 1989)。

2.3 内生菌である

内生細菌とは、無菌状態の植物組織から分離できる細菌である。具体的には、細菌は発芽組織、根、気孔、あるいは損傷した組織を通じて組織内に侵入する。内生細菌とは、その生活環の一部または全部を植物組織内で過ごし、病害症状を引き起こ

さない微生物である。これらの細菌は、種子、根、茎、葉などの健康な植物組織に生息している。植物組織に生息する内生細菌は、植物の成長促進剤として機能し、抗生物質を産生することで 抗生物質を産生することで、植物の病原体に対する抵抗性を高める。また、内生細菌は植物にとって極めて重要な二次代謝産物を産生する (Juwita, 2010) 。

宿主植物に応じた二次代謝産物を生成できるエンドファイト菌の能力は、その宿主植物から分離されたエンドファイト微生物から二次代謝産物を生産するための、非常に大きく信頼できる機会である (Radji, 2005) 。様々な種類のエンドファイト菌が宿主植物から分離され、適切な培養培地で増殖させることに成功している。

ある種の微生物を同定するには、純粋培養を得るために分離を行う必要がある。実験室条件下で微生物を分離するには、検討中の特定の細菌種の要件を満たす栄養素と物理的条件を用意する必要がある。これに伴い、微生物学では様々な培地が使用され、培養のための様々な物理的条件と組み合わせられている (Pelczar, 1986) 。

内生細菌は、宿主の環境ストレス（不利な環境）に対する耐性を高め、また、植物病原菌や、宿主植物を食害する昆虫を含む草食動物に対する宿主の抵抗性を高めることで、宿主の生態的適応力を向上させる。内生細菌は、周囲の環境から侵入する病原性細菌や真菌による攻撃から宿主を保護することもできる (Tan & Zou, 2001) 。

2.4 生物的病害防除としての内生細菌

広義の植物病害の生物的防除とは、病原体の制御、あるいは を減少させるあらゆる方法を指す (Campbell, 1989) 。狭義において、生物的病害防除とは、病原体を防除するために、環境内に拮抗性のある微生物叢を人為的に導入することを指す。

生物的防除はまた、1つまたは複数の生物を、自然の状態で、あるいは環境、宿主、拮抗生物の操作を通じて、あるいは1つまたは複数の拮抗生物の添加を通じて利用し、活動期および休眠期のいずれにおいても、病原体または寄生虫の密度を低減させ、あるいはその活動を抑制しようとする取り組みとして定義することもできる。

生物的病害防除の目的は、植物における病原体の生存能力を低下させることで病気の進行速度を遅らせ、生成される繁殖体の数を減らし、病原体の拡散を抑制し、植物への感染を減らし、病原体による深刻な被害を軽減することにある。 Khaeruni と Gusmawati (2012) は、生物的防除とは、天敵（生物的防除剤）を活用する生物学的手法による害虫防除であると述べている。

第3章 研究方法

3.1 研究の時期および場所 ()

本研究は、2019年2月から2019年4月にかけて、北スマトラ州保健研究所において実施された。

3.2 器具および材料

本研究で使用した器具は、ペトリ皿、試験管、インキュベーター、分析天秤、エルレンマイヤーフラスコ、メス、カバーガラス、スライドガラス、ピペット、スパチュラ、メス、オセ針、ブンゼンバーナー、コークスボーラー、オートクレーブ、顕微鏡、およびカメラである。

一方、本研究で使用した材料は、唐辛子の根、フザリウム萎凋病に感染した唐辛子の果実、70%エタノール、スピリッツ、滅菌蒸留水、NA培地（栄養寒天培地）、PDA培地（ジャガイモデキストロース寒天培地）、過酸化水素（カタラーゼ試験）、トリプルシュガーアイアン寒天培地（TSIA）、亜硫酸インドル運動性試験培地（細菌の運動性試験）、ゼラチン培地（ゼラチン加水分解試験）、シモンズクエン酸寒天培地（クエン酸試験）、染色試薬（クリスタルバイオレット、ルゴール液、サフラニン、アセトンアルコール）およびスピリタスである。

3.3 研究方法 ()

本研究で用いた研究方法は、実験室規模の記述的手法であり、本研究は6つの段階から構成されており、その段階は以下の通りである。a). サンプルの調製：使用する

器具および原材料を準備する。b). 内生細菌の分離：この段階では、唐辛子の根から内生細菌を採取する。c). 内生菌の精製。この段階では、すでに分離された細菌を新しい培地に移し、再培養する。d). 内生細菌の同定。この段階は、内生細菌の肉眼的および顕微鏡的観察による特性評価という2つの段階からなる。e). 病原性フザリウム菌の分離および同定。フザリウム菌は、腐敗した唐辛子の果実から採取される。f). 内生細菌の拮抗試験。この試験ではデュアルカルチャー法を用い、PDA培地上で内生細菌の*Fusarium oxysporum*に対する活性を試験する。

3.3.1 試料の調製

サンプルの調製は、赤唐辛子の根から内生細菌を採取し、腐敗した赤唐辛子の果実から病原菌フザリウム・オキシスポラムを採取すること、および本研究で使用する器具と培地の滅菌処理から始まる段階である。

3.3.2 内生菌 の分離

内生細菌の分離は、表面滅菌法に従って行われた。その後、唐辛子の根を流水で洗浄し、滅菌した濾紙の上に置いた。続いて、約1~2cmの長さに切断した。その根の断片を70%エタノールで約1分間滅菌した後、次亜塩素酸ナトリウム (Bayclin 3%) に約1分間浸漬し、再び70%エタノールで3回洗浄して滅菌し、さらに滅菌蒸留水で3回洗浄した (Radji, 2005)。その後、NAを含むペトリ皿に播種して培養した。35° Cで24~48時間インキュベートした。分離培地に生じた内生細菌のコロニーについて、精製を行う。精製は、35° Cで段階的かつ反復的に接種することで行われる。

3.3.3 内生菌の精製

NA分離培地上で増殖した細菌は、NA培地に再培養し、純粋なコロニーが得られるまで35° Cで24~48時間培養した。その後、純粋なコロニーをNA斜面寒天培地に移し、35° Cで24~48時間培養した。各内生細菌の分離株について、NA斜面寒天培地に2株ずつ作製し、それぞれをストックカルチャー（保存培養）およびワーキングカルチャー（作業培養）として使用した（Nursulistyarini & Ainy, 2013）。

3.3.4 内生菌の同定

1) 内生細菌の肉眼的観察

内生細菌の肉眼的観察による特性評価は、形態およびコロニーの成長を観察することで行われる。観察項目には、コロニーの形状、縁の形状、色、および表面の形状が含まれる（Mutmainnah *et al*, 2008）。

2) 内生細菌の顕微鏡観察

顕微鏡観察による特性評価は、細菌の細胞形態を確認し、分離株の純度を評価するために行われる。顕微鏡観察には、グラム染色、カタラーゼ試験が含まれる。細菌属の同定については、Bergey's Manual of Determinative Bacteriologyを参考に、得られた分離株に対して一連の生化学的試験を継続して行う。

3.3.5 病原性真菌の分離および同定： *Fusarium*

病原体の感染症状を示す唐辛子のサンプル（果実）を、蒸留水、アルコール、次亜塩素酸ナトリウムを用いて滅菌した後、PDA培地に接種し、24~48時間培養した。サブカルチャーで増殖した菌コロニーを、純粋な単離株が得られるまで培養した。病原菌は肉眼的および顕微鏡的に特徴づけられた。肉眼的観察は、コロニーの色、形状、および縁を直接観察して行われた。

一方、顕微鏡的観察にはブロックスクエア法が用いられる。この方法では、ペトリ皿内で固化させたPDA培地を、滅菌済みのカミソリを使用して1cm×1cmの大きさに切り取る。次に、切り取った培地をスライドガラス上に置き、オセ針を用いて真菌培養液を塗布する。その後、PDA培地をカバーガラスで覆い、顕微鏡下で増殖を観察できるようにする (Dwidjoseputro, 2005)。

3.4 の拮抗試験

拮抗試験は、内生細菌が病原菌である*Fusarium oxysporum*の増殖を抑制する能力を調べるために実施された。病原菌の分離株はブランクディスクを用いて採取し、MHA + YE 1%の改良培地の中央部に、細菌分離株の接種用ブランクディスクから3.5 cm離れた位置に接種した後、その培養物を室温で72時間培養した。

病原菌に対する内生細菌分離株の抑制能の試験は、Kirby-Baur法 (Mishra *et al.*, 2006) に従い、紙ディスク拡散法を用いて行った。内生細菌分離株の懸濁液を直径0.6 cmのブランクディスクに滴下した。続いて、ブランクディスクを培地の縁の2か所に配置し、室温で7日間培養することで拮抗試験を行った。病原性真菌の菌糸の増殖に対する抑制ゾーンの出現により、拮抗作用を持つ可能性のある内生細菌分離株が示された。

3.5 データ分析

観察および拮抗試験から得られたデータは、記述的に分析され、観察結果を表にまとめた。これには、内生細菌の特性（色、隆起、形状、縁、表面）および病原菌*Fusarium oxysporum*の増殖を阻害する能力が含まれる。

結論と提言

5.1 結論

実施された研究結果に基づき、分離結果として、*Bacillus*属と推定される2つの細菌コロニー、すなわちA1およびA2が発見されたと結論づけられる。細菌培養物と*Fusarium oxysporum*菌との拮抗試験の結果、A1では11.5 mm、A2では9 mmの抑制帯が確認された。これは、分離された内生細菌が*Fusarium oxysporum*の増殖を抑制し得ることを示している。

5.2 提言

今後の研究における提案としては、赤唐辛子の植物自体に対して、当該病原菌であるフザリウム・オキシスポラムに対し、内生細菌を用いた直接試験を行うことである。

参考文献リスト

- Alexopoulos, C. J & C. W. Mims. 1979. *Introductory Mycology*. Third Edition. John Wiley and Sons. New York.
- Arios, L. N., D. Suryanto, K. Nurtjahja dan E. Munir. 2014. Asai Kemampuan bakteri endofit dari kacang tanah dalam menghambat *Sclerotium* sp. pada kecambah kacang tanah. *Jurnal HPT Tropika*, 14(2):178-186.
- Aryanti, R, 2017. Pembuatan Pestisida Nabati Dengan Cara Ekstrak Daun Pepaya Dan Belimbing Wuluh, *Jom Fteknik*, Volume.4, No. 02
- Bergey' s, 2005. *Manual of Systematic Bacteriology*. Departement of Microbiology and Moleculer Genetics: Michigan State University
- Badan Pusat Statistik, 2014. *Produksi Cabai Merah Menurut Provinsi Tahun 2009-20014*. Kementrian Pertanian Reprublik Indonesia.
- Campbell, 1989. *Riset dalam Efektivitas Organisasi*, Terjemahan Sahat Simamora. Erlangga. Jakarta
- Cappucino and Sherman N, 2005. *Microbiology a Laboratory Manual 7thEd*. Pearson Education, Inc. Publishing as Benjamin Cummings. San Francisco.
- Cook RJ and Baker KF, 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. American Phytopathol. Soc. St. Paul, MN.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Clasification Of Flowering Plamts*. Columbia University Press. New York. 1262 Hlm.
- Damayanti, 2013, 'Potensi cendawan endofit untuk menekan penyakit daun keriting kuning pada tanaman cabai (*Capsicum annum* L.)', disampaikan dalam Seminar Hasil Penelitian Pascasarjana IPB pada tanggal 17 Januari 2013.
- Djaenuddin N, 2011. *Bioekologi Penyakit Layu Fusarium Fusarium oxysporum*. Seminar dan Pertemuan Tahunan XXI PEI, PFI Komda Sulawesi Selatan dan DinasPerkebunanPemerintah Provinsi Sulawesi Selatan.

- Dwidjoseputro, D. 2005. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djembatan ; Jakarta
- Faudi I, 2010. Pengendalian Hayati Penyakit Layu (*Fusarium oxysporum* Schlecht) pada Tanaman Caisin (*Brassica campestris* var *chinensis*). [Tesis]. Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau. Riau
- Fitriyah L, 2015. Penapisan dan Identifikasi Bakteri Endofit Cabai Merah Penghambat *Colletotrichum capsici*, Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Harpenas, Asep dan R. Dermawan. 2010. Budidaya Cabai Unggul. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Habib IMH, Sukamto DS, Maharani L, 2017. Potensi Mikroba Tanah Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Dan Hasil Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.). *Folium*. 1(1): 29-37.
- Herwidyarti dkk, 2013. Keparahan Penyakit Antranoksa Pada Cabai merah (*Capsicum annum* L.) Dan Berbagai Jenis Gulma, *Agrotek tropika*, Vol. 1 ; 102-106.
- Huda, Miftahul. 2010. Pengendalian *Fusarium* pada Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca*) secara Kultur Teknis dan Hayati. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Juwita. 2010. Potensi Bakteri Endofit Dalam Meningkatkan Ketahanan Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) Terhadap Serangan Nematoda Sista Kuning (*Globodera rostochiensis*). Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Malang.
- Khaeruni A dan Gusmawati HS, 2012. Penggunaan *Bacillus* spp Sebagai Agen Biokontrol untuk Mengendalikan Penyakit Layu *Fusarium* pada Tanaman Cabai. *Jurnal Agroteknologi*, 2(3) : 182-189.
- Lay, B., 1994. Analisis Mikrobial di Laboratorium, 79-101, 129-132, Manajemen PT Grafindo Persada, Jakarta.
- Lubis S. S., 2015. Penapisan Bakteri Laut Penghasil Antimikroba dari pesisir Serdang Berdagi Sumatera Utara (The screening of Marine Bacteria of Producing Antimicrobial from Coastal Area of Serdang

- Berdagai North Sumatera). *Journal of Islamic Science and Technology*. 1(1):3-18.
- Melliawati R, D.N Widyaningrum, A.C. Djohan, dan Sukiman, H. 2006. Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif Untuk Potensi Tanaman. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. *Biodeversitas* 7 ; 221-224
- Mutmainnah et al. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan Ayam kampung *Gallus domesticus*. *Jurnal Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin Makasar*.
- Mihardjo, dan Majid, A. 2008. Pengendalian Penyakit Layu pada Pisang dengan Bakteri Antagonis *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*. *Jurnal Pengendalian Hayati* 1(12) : 26 - 31.
- Mishra, K.K, Srivastava, S, Garg, A, and Ayyagari, A. 2006. Antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori* clinical isolates: Comparative evaluation of disk-diffusion and E-test methods. *Current microbiology* 53:329-334
- Naisaroh, U., G. Isnawati dan Trimulyono. 2015. Aktivitas antifungi *Serratia marcescens* terhadap *Alternaria porri* penyebab penyakit bercak ungu secara in vitro. *Jurnal Biologo*, 4 (1): 13-18
- Nurahmi E., T. Mahmud, dan Sylvia R.S . 2011. Efektivitas Pupuk Organik terhadap Pertumbuhan dan Hasil Cabai Merah. *Jurnal: Jurusan Agroteknologi. Universitas Syiah Kuala Darrusalam Banda Aceh*.
- Nursulistyarini, F Dan Ainy, EQ. 2013. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Penghasil Antibakteri Dari Daun Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Seminar Nasional Xi Pendidikan Biologi. FKIP UNS
- Pelczar, J. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI Press).
- Prayudi, B. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Cabai Merah (Capsicum annum L.)*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Balai Pengkajian

Teknologi Pertanian, Jawa Tengah.

Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 1 ; 113 - 126

Rostini N, 2011. Enam Jurus Bertanam Cabai Bebas Hama dan Penyakit.

Agromedia. Jakarta

Saragih, S.D. 2009. Jenis-jenis Fungi pada Beberapa Tingkat Kematangan Gambut. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatra Utara.

Schlegel GH, 1993. *General Microbiology*. Cambridge University Press. England. Semangun, 2007. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gajah

Mada University Press. Yogyakarta.

Soesanto L dan Termorshuizen AJ, 2001. *Pseudomonas fluorescens* P60 sebagai Agensia Pengendali Hayati Jamur-Jamur Patogen Tular tanah. Hal. 183-186.

Susetyo, A.P. 2010. Hubungan Keanekaragaman Cendawan Rizosfer Tanaman Pisang (*Musa sp.*) dan Penyakit Layu *Fusarium*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.

Supriyati dan E, Roosganda. 2009. Pensejahteraan Petani dan Pengembangan Agribisnis melalui Pengembangan Kelembagaan Kemitraan dalam Pemasaran Cabai Merah. Disampaikan dalam Seminar Nasional Peningkatan Daya Saing Agribisnis Berorientasi Kesejahteraan Petani. Bogor.

Suryanto D, Irawati N dan Munir E, 2011. Isolation and Characterization of Chitinolytic Bacteria and Their Potential to Inhibit Plant Pathogenic Fungi. *Microbiology Indonesia*, 5(2) : 144-148.

Sutarini NLW, Sumiartha IK, Sudiarto IP, Wiryau GNAS, dan Utama MS, 2015. Pengendalian Penyakit Layu *Fusarium* pada Tanaman Cabai Besar (*Capsicum annum* L) dengan Kompos dan Pupuk Kandang yang dikombinasi dengan *Trichoderma sp.* di Rumah Kaca. *E-journal Agroekoteknologi Tropika*, 4(2) : 43-52.

Tan RX, and Zou WX. 2001. Endophytes: A Rich Source of Functional Metabolites. *Nat Prod Rep*. 18: 448-459

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 13/5/26

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From (repositori.uma.ac.id)13/5/26

- Tjahjadi, N. 1989. Hama dan Penyakit Tanaman. Kanisius. Yogyakarta.
- Tjahjadi, N. 1991. Bertanam Cabai. Kanisius. Yogyakarta
- Wahyudi, 2011. Panen Cabai Sepanjang Tahun. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Wibowo A, 2001. Suppression of Sheath Blight Of Rice With Antagonistic Bacteria. *PerlindunganTanaman Indonesia*, 7(2):21-25.