

pixabay.com

Viktória Uzsáková, Miroslava Hlebová

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta biotechnológie
a potravinárstva, Univerzita Svätého Cyrila a Metoda v Trnave, Fakulta prírodných vied

Pozberová kontaminácia poľnohospodárskych plodín, najmä mikroskopickými vláknitými hubami, značne vplýva na poľnohospodársky priemysel. Prítomnosťou fungálnych patogénov v/na ovocí alebo zelenine dochádza k zhoršeniu ich kvality (zmena chuti, farby, vône) a tým pádom aj k ekonomickým stratám v priemysle. Okrem toho môžu predstavovať potenciálne nebezpečenstvo v dôsledku produkcie karcinogénnych, teratogénnych a mutagénnych toxínov. Z týchto dôvodov je poľnohospodársky priemysel závislý na využití rôznych chemických fungicídov na elimináciu týchto patogénov. Väčšinu fungálnych chorôb poľnohospodárskych plodín je veľmi náročné odstrániť, nakoľko môžu pretrvávajúť niekoľko vegetačných období, čo vyžaduje aj pravidelnosť využitia syntetických fungicídov. Nadmerné používanie týchto pesticídov však môže viesť k rôznym problémom ovplyvňujúcim životné prostredie v dôsledku rezíduí, ktoré pretrvávajú v pôdach, alebo migrujú do vodných tokov a taktiež dlhodobé používanie vedie k rozvoju rezistencie voči patogénom. Vzhľadom na rastúci negatívny dopad doposiaľ využívaných fungicídov stúpa záujem o využitie biologických produktov založených na prospešných kmeňoch baktérií, akými sú najmä baktérie podporujúce rast rastlín (PGPB). PGPB je skupina nepatogénnych prospešných baktérií, ktoré môžu priamo a/alebo nepriamo podporovať rast rastlín, odolnosť voči chorobám a toleranciu voči abiotickému stresu. Obzvlášť zaujímavými PGPB, sú baktérie patriace do rodu *Bacillus*.

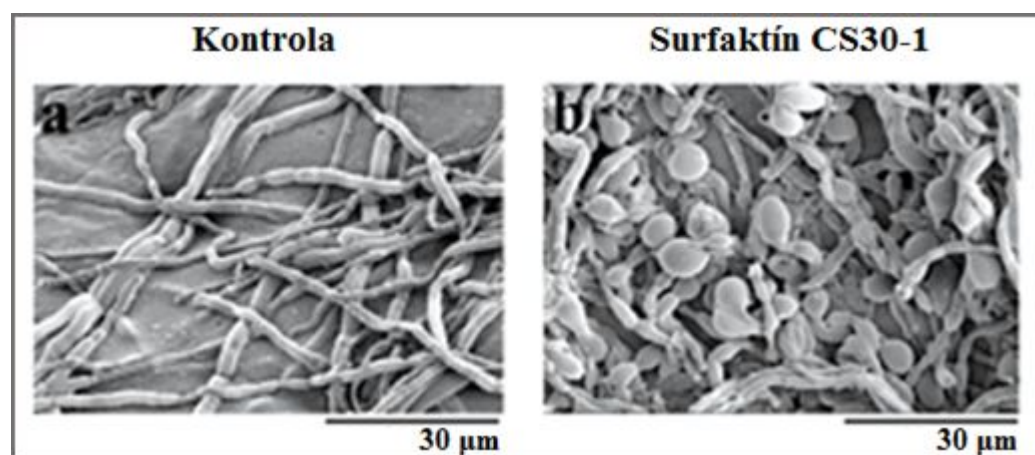
Rod *Bacillus* a jeho antifungálna účinnosť

Druhy rodu *Bacillus* zaradujeme medzi Grampozitívne, tyčinkovité endosporulujúce baktérie, vyznačujúci sa aeróbnym alebo fakultatívne anaeróbnym metabolizmom. Rod *Bacillus* patrí medzi pôdne a rizosférické baktérie, kde tvorí až 95 % Grampozitívnej bakteriálnej populácie. Bacily sú považované za jednu z najviac študovaných skupín baktérií, ktoré poskytujú podporu rastu rastlín a biokontrolu viacerých chorôb. Ich rozmanitosť, všestrannosť a najmä schopnosť vytvárať endospóry, ktoré im zabezpečujú prežitie i v nepriaznivých podmienkach, a produkcia rôznych účinných sekundárnych metabolitov vytvorili obrovský potenciál týchto baktérií pre aplikácie v poľnohospodárstve a biotechnológii ako fytostimulanty, biopesticídy a biofertilizátory. Doteraz bolo publikovaných niekoľko mechanizmov, ktoré druhy rodu *Bacillus* používajú na kontrolu fungálnych patogénov ovocia a zeleniny, vrátane konkurencie o priestor alebo živiny,

účinkov antibiózy a indukovanej systémovej rezistencie rastlín. Zo spomínaných mechanizmov je antibióza zaznamenaná ako dôležitý mechanizmus, pomocou ktorého rod *Bacillus* produkuje aktívne metabolity inhibujúce fungálne kontaminanty. Medzi najznámejšie antifungálne zlúčeniny tohto rodu patria najmä lipopeptidy a prchavé organické zlúčeniny.

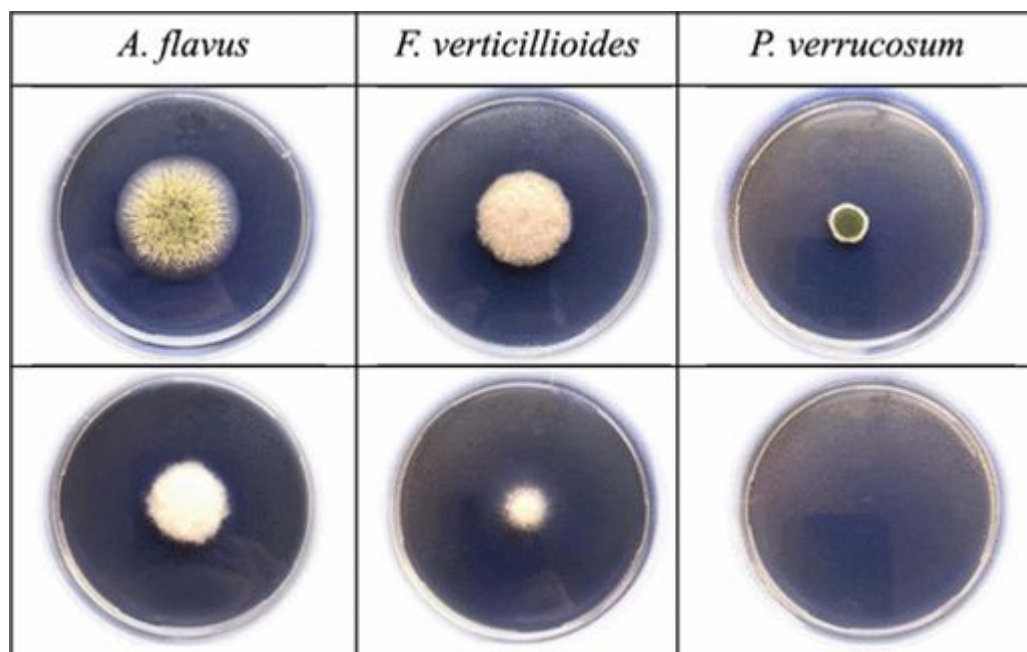
Antifungálne zlúčeniny

Lipopeptidy (LP) rodu *Bacillus* vykazujú lytické aj rastovo-inhibičné aktivity proti širokému spektru húb. Patria medzi nízkomolekulové cyklické amfifilné oligopeptidy, ktoré sú syntetizované komplexmi viacerých enzýmov nazývanými non-ribozomálne peptidové syntetázy. Existujú tri rodiny LP, ktoré sa líšia svojou chemickou štruktúrou: surfaktíny, ituríny a fengycíny. Inhibičný účinok týchto zlúčenín spôsobuje zmeny v morfológii a fyziológii fungálnych buniek (skučeravenie hýf, opuch, vakuolizácia, degradácia mitochondrií).



Obrázok 1: Účinky surfaktínu *Bacillus subtilis* CS30-1 na morfológiu hýf *Magnaporthe grisea* (Wu a kol., 2019, upravené - Uzsáková)

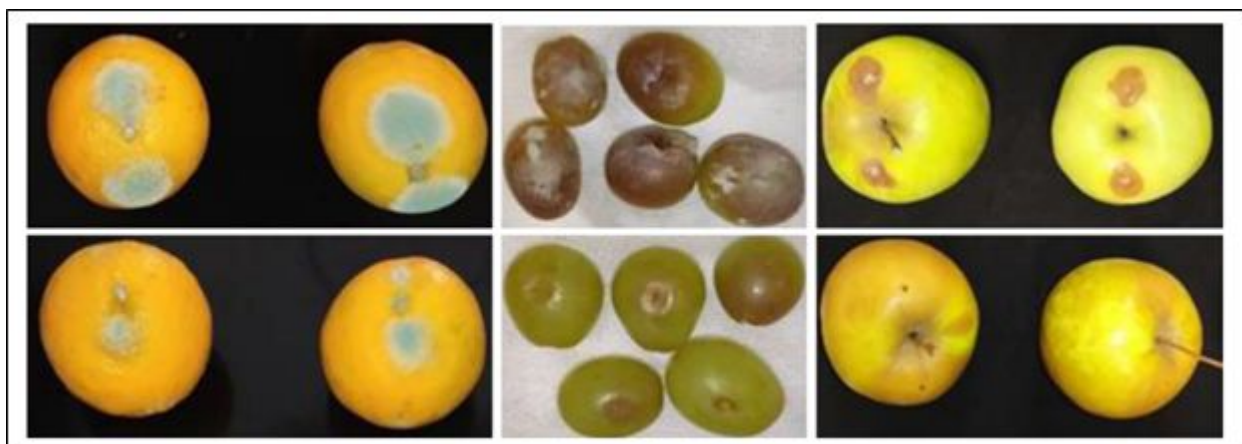
Prchavé organické zlúčeniny (VOC, z angl. volatile organic compounds) sú malé zlúčeniny s menej ako 20 atómami uhlíka nízkou molekulovou hmotnosťou. Sú kľúčovými biokontrolnými faktormi so špecifickými výhodami, ako je vysoká difúzna účinnosť a široký rozsah antagonizmu. *Bacillus* produkuje niekoľko typov aktívnych VOC, vrátane benzénov, alkoholov, esterov, ketónov, aldehydov, terpenoidov, alkénov, heterocyklických zlúčenín a zlúčenín obsahujúcich síru. VOC môžu tiež inhibovať rast mycélia, abnormálne meniť morfológiu hýf a predchádzať tvorbe spór.



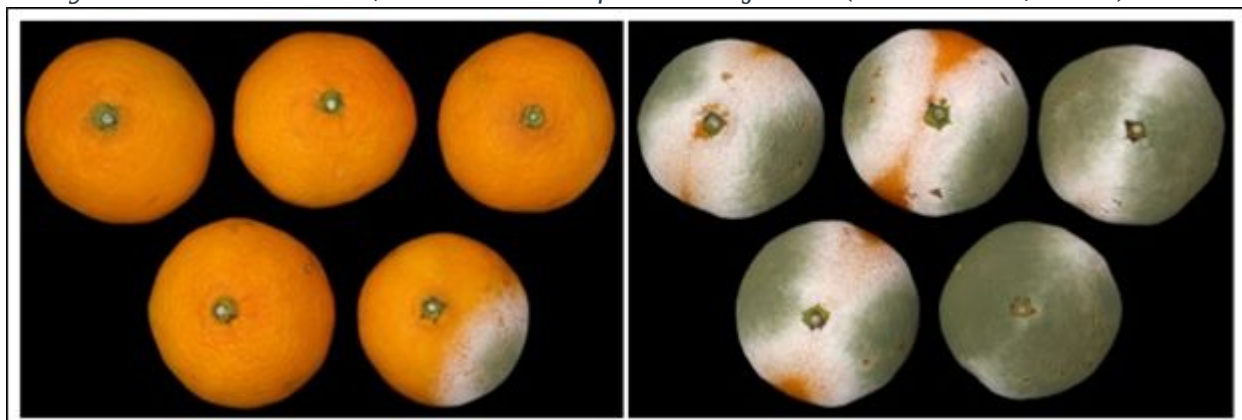
Obrázok 2: Účinok VOC *Bacillus megaterium* BM344-1 proti toxigénnym hubám rodu *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium* na veľkosť kolónií a sporuláciu (Saleh a kol., 2021)

Aplikácie a komercializácia produktov na báze *Bacillus* spp.

Rôzne výskumy vykonávané v laboratórnych podmienkach ukázali, že kmene rodu *Bacillus* majú významný potenciál pri využití ako biologického kontrolného agensu proti širokému spektru fungálnych patogénov pozberovej kontaminácie rôznych druhov ovocia alebo zeleniny, vďaka svojim inhibičným účinkom. Rovnako ako aj pri *in vitro* podmienkach sa tento bakteriálny rod preukázal aj pri *in vivo* testoch na rôznych typoch poľnohospodárskych produktov, kde výrazne zmiernil lézie fungálnych patogénov. Pri aplikácii antagonistických baktérií rodu *Bacillus* v prípade kontroly pozberovej kontaminácie bolo vyvinutých niekoľko metód, ako je ponorenie, namáčanie a postrek. Taktiež je vhodné použiť ich plynnú fázu, vďaka produkcii VOC, kedy by nedošlo k priamemu kontaktu plodiny s baktériou alebo s konkrétnou prchavou zlúčeninou rodu *Bacillus*. Doposiaľ je na trhu len pár komerčne dostupných biofungicídov na báze *Bacillus* spp., najmä *B. subtilis*, ako napríklad Serenáda, ktorý je registrovaný na použitie proti mikroskopickým vláknitým hubám ako *B. cinerea*, *Sclerotinia* spp., *Pseudomonas* spp., *Monilinia* spp., *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Phytophthora* spp. a *Venturia* spp.. Vďaka ich antifungálnemu účinku voči rôznym fungálnym kontaminantom poľnohospodárskych plodín, akými sú napríklad ovocie alebo zelenina, sú potrebné ďalšie štúdie, najmä iných kmeňov, pre zvýšenie počtu dostupných biologických kontrolných produktov na báze *Bacillus* spp. a ich budúcu komercializáciu a aplikáciu v poľnohospodárstve.



Obrázok 3: *In vivo* účinnosť VOC *Bacillus velezensis* proti *Penicillium italicum* - mandarinky, *Botrytis cinerea* - hrozno, *Penicillium expansum* - jablká (Calvo a kol., 2020)



Obrázok 4: *In vivo* účinnosť *Bacillus sp. w176* proti *Penicillium digitatum* na mandarínkach (Tian a kol., 2020, upravené- Uzsáková)



Obrázok 5: *In vivo* účinnosť *Bacillus subtilis* L1-21 proti *Botrytis cinerea* na paradajkách (Bu

a kol., 2021)

Biofungicíd	Mikrobiálny agent	Ovocie/zelenina	Výrobca/ distribútor
Phytopsporin-M Golden Authum, AntiGnil	<i>B. subtilis</i> 26D	Mrkva, paradajka, kapusta, cukrová repa, zemiaky	Bashinkom, Rusko
Rhapsody [®]	<i>B. subtilis</i> QST 713	Paradajka	Bayer, Kanada
Rhio-plus	<i>B. subtilis</i> FZB 24	Zemiaky a iná zelenina	KFZB Biotechnick, Nemecko
Serenáda- MAX	<i>B. subtilis</i> QST713	Jablko, hruška, hrozno, paradajka, zemiaky	AgraQuest. Inc., USA
Serifel [®]	<i>B. amyloliquefaciens</i> MBI600	Jahody, maliny, čučoriedky, hrozno, paradajky, baklažán, chilli papričky, listová zelenina	BASF Agricultural Solutions, UK
Subtilex [®]	<i>B. subtilis</i> MBI 600	Jahody, maliny, čučoriedky, hrozno, paradajky, Mrkva, paradajka, kapusta, zemiaky	BASF Agricultural Solutions, USA

Tabuľka 1 : Komericializované produkty biokontroly na báze *Bacillus* spp. využívané na kontrolu fungálnych ochorení poľnohospodárskych plodín po zbere (Lastochkina a kol., 2019).

Záver

Biologická kontrola je ekologickou stratégiou boja proti pozberovému znehodnocovaniu poľnohospodárskych plodín mikroskopickými vláknitými hubami. Táto metóda, ktorá využíva antagonistické mikroorganizmy, alebo ich sekundárne metabolity, je považovaná za jednu z najslubnejších alternatív, ktorá by nahradila/znížila využívanie doposiaľ používaných chemických fungicídov. V súčasnosti je mnoho štúdií, ktoré odhaľujú potenciál biologickej kontroly, práve prostredníctvom rodu *Bacillus*, ktorý pozitívne ovplyvňuje fyziológiu ovocia/zeleniny po zbere, nakoľko zvyšuje ich odolnosť voči rôznym pozberovým fungálnym patogénom, čo má za následok predĺženie obdobia skladovania a predĺženú „marketingovú“ životnosť, zachovanie čerstvosti a nutričnej kvality. Preto je dôležité odhaľovať ďalšie účinné aspekty tohto rodu pri jeho využití ako biologického fungicídu pozberovej kontaminácii a zároveň testovať neškodnosť týchto baktérií ako aj ich sekundárnych metabolitov, ktoré by

neovplyvnili kvalitu poľnohospodárskych plodín a taktiež zdravie konzumenta.

Použitá literatúra

Blake, C., Christensen, M. N., Kovács, Á. T. (2021). Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 34(1), 15-25. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-20-0225-CR>

Bu, S., Munir, S., He, P., Li, Y., Wu, Y., Li, X., ... & He, Y. (2021). *Bacillus subtilis* L1-21 as a biocontrol agent for postharvest gray mold of tomato caused by *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, 157, 104568. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104568>

Calvo, H., Roudet, J., Gracia, A. P., Venturini, M. E., & Fermaud, M. (2021). Comparison of efficacy and modes of action of two high-potential biocontrol *Bacillus* strains and commercial biocontrol products against *Botrytis cinerea* in table grapes. *OENO One*, 55(3), 228-243. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2021.55.3.4688>

Carmona-Hernandez, S. , Reyes-Pérez, J.J., Chiquito-Contreras, R.G., Rincon-Enriquez, G., Cerdan-Cabrera, C.R., Hernandez-Montiel, L.G. (2019). Biocontrol of postharvest fruit fungal diseases by bacterial antagonists: A review. *Agronomy*, 9 (3), 121. <https://doi.org/10.3390/agronomy9030121>

Collemare, J., O'Connell, R., Lebrun, M.H. (2019). Nonproteinaceous effectors: the terra incognita of plant-fungal interactions. *New Phytologist*, 223 (2) , 590-596. <https://doi.org/10.1111/nph.15785>

Ghorbanpour, M., Omidvari, M., Abbaszadeh-Dahaji, P., Omidvar, R., Kariman, K. (2018). Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. *Biological Control*, 117, 147-157. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.11.006>

Khan, M., Salman, M., & Jan, S. A. (2021). Biological control of fungal phytopathogens: A comprehensive review based on *Bacillus* species. *MOJ Biol Med*, 6(2), 90-92. <https://doi.org/10.15406/mojbm.2021.06.00137>

Kiesewalter, H. T., Lozano-Andrade, C. N., Maróti, G., Snyder, D., Cooper, V. S., Jørgensen, T. S., ... & Kovács, Á. T. (2020). Complete genome sequences of 13 *Bacillus subtilis* soil isolates for studying secondary metabolite diversity. *Microbiology resource announcements*, 9(2), e01406-19. <https://doi.org/10.1128/MRA.01406-19>

Li, T.T., Zhang, J.D., Tang, J.Q., Liu, Z.C., Li, Y.Q., Chen, J., Zou, L.W. (2020). Combined

Use of *Trichoderma atroviride* CCTCCSBW0199 and *Brassinolide* to Control *Botrytis cinerea* Infection in Tomato. *Plant Disease*, 104 (5), 1298-1304.

<https://doi.org/10.1094/PDIS-07-19-1568-RE>

Liu, L. , Zhao, X.-Y., Tang, Q.-B., Lei, C.-L., Huang, Q.-Y. (2019). The mechanisms of social immunity against fungal infections in eusocial insects. *Toxins*, 11 (5) , 244.

<https://doi.org/10.3390/toxins11050244>

Saleh, A. E., Ul-Hassan, Z., Zeidan, R., Al-Shamary, N., Al-Yafei, T., Alnaimi, H.& Jaoua, S. (2021). Biocontrol Activity of *Bacillus megaterium* BM344-1 against Toxigenic Fungi. *ACS omega*, 6(16), 10984-10990. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00816>

Tian, Z., Li, Y., Yang, Q., Liu, P., Du, Y., Chen, C., & Long, C. A. (2021). Antifungal activities and the mechanisms of biocontrol agent WE-3 against postharvest sour rot in citrus. *European Journal of Plant Pathology*, 1-11.

<https://doi.org/10.1007/s10658-021-02356-y>