

# Antagonistyczna aktywność bakterii kwasu mlekowego przeciwko rozwojowi *Botrytis cinerea* na sałacie i szpinaku

Beata Kowalska, Magdalena Szczech

Instytut Ogrodnictwa Państwowy Instytut Badawczy, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

e-mail: [beata.kowalska@inhort.pl](mailto:beata.kowalska@inhort.pl)

Bakterie kwasu mlekowego (LAB) wykazują zdolność do hamowania wzrostu patogenów przenoszonych przez żywność, mikroorganizmów powodujących psucie się żywności, a także mikroorganizmów chorobotwórczych dla roślin (1,2). Może to być spowodowane konkurencją o składniki odżywcze i miejsca kolonizacji, jak również antybiozą poprzez produkcję różnych związków przeciwdrobnoustrojowych, w tym kwasu mlekowego. Ważne jest również, że większość bakterii kwasu mlekowego jest bezpieczna do stosowania w żywności. Cechy te sprawiają, że niektóre LAB mogą być wykorzystane do biologicznego zwalczania chorób roślin (3).

Celem pracy było zbadanie aktywności różnych szczepów LAB w ograniczaniu rozwoju *B. cinerea* i szarej pleśni na liściach sałaty i szpinaku. Zwrócono również uwagę na zanieczyszczenia mikrobiologiczne występujące na powierzchni liści, np. bakterie i grzyby pleśniowe.

Spośród ponad 100 izolatów wybrano trzy szczepy LAB, które najaktywniej hamowały wzrost *B. cinerea* w teście antagonistycznym na pożywce agarowej z dekstrozą ziemniaczaną. Następnie opracowano metodę opłaszczania izolatami LAB odciętych liści szpinaku i sałaty. Inokulum utrzymywało się na wysokim poziomie przez 8 dni i wynosiło około  $10^5$  i  $10^6$  jtk na 1g liści, odpowiednio dla szpinaku i sałaty. Dodatkowo okazało się, że liście poddane temu zabiegowi były w mniejszym stopniu zanieczyszczone grzybami pleśniowymi w porównaniu z kontrolą nietraktowaną.

W kolejnych doświadczeniach laboratoryjnych liście sałaty i szpinaku zostały opłaszczane bakteriami LAB, a następnie zakażone *B. cinerea*. Badaniom poddano trzy izolaty *B. cinerea*. Infekcję liści oceniano po 6, 10 i 15 dniach od inokulacji. Stwierdzono hamujący wpływ badanych izolatów LAB na rozwój szarej pleśni na liściach sałaty w stosunku do jednego izolatu *B. cinerea*, uzyskanego z pomidora. Wyniki te zostały potwierdzone w doświadczeniach szklarniowych na roślinach sałaty i szpinaku. Dodatkowo stwierdzono istotny wpływ LAB na wzrost szpinaku. Świeża masa roślin traktowanych tymi bakteriami była o 20-40% wyższa w porównaniu z kontrolą. Wzrost ten zależał od badanego izolatu bakterii.

Podsumowując, można stwierdzić, że rośliny sałaty i szpinaku opłaszczane bakteriami kwasu mlekowego mogą stanowić nośnik jako potencjalne źródło bakterii probiotycznych oraz dodatkowo bakterie LAB mogą chronić rośliny przed porażeniem przez *B. cinerea*.

Pracę wykonano w ramach tematu statutowego „Opracowanie metod ograniczających występowanie skażeń mikrobiologicznych owoców i warzyw przeznaczonych do bezpośredniego spożycia” finansowanego przez Ministerstwo Edukacji i Nauki (ZM/2/2018-2023).

1. Manjarres Melo JJ, Alvarez A, Ramirez C, Bolivar G (2021) Antagonistic activity of lactic acid bacteria against phytopathogenic fungi isolated from cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). *Curr Microbiol* 78: 1399-1408. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02416-w>
2. Manjarres Melo J.J., Alvarez A., Ramirez C., Bolivar G. 2021. Antagonistic activity of lactic acid bacteria against phytopathogenic fungi isolated from cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). *Current Microbiology* 78: 1399-1408. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02416-w>
3. Lamont JR, Wilkins O, Bywater-Ekegård M, Smith DL (2017) From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Biol Biochem* 111:1-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.015>

# Antagonistic activity of lactic acid bacteria against development of *Botrytis cinerea* on lettuce and spinach

Beata Kowalska, Magdalena Szczech

The National Institute of Horticultural Research

e-mail: [beata.kowalska@inhort.pl](mailto:beata.kowalska@inhort.pl)

Lactic acid bacteria (LAB) show their potential to inhibit the growth of foodborne pathogens, spoilage microorganisms and also plant pathogenic microorganisms (1,2). It might be due to competition for nutrients and colonization sites, or antibiosis via the production of various antimicrobial compounds including lactic acid. It is important that lactic acid bacteria are generally safe for use in food. The features could also make suitable some LAB for the biological control of plant diseases (3).

The aim of the study was to examine activity of three different LAB strains in reduction of *B. cinerea* and gray mold development on lettuce and spinach leaves. Attention was also paid on the microbiological contamination present on the leaf surface, e.g. spoiled bacteria and fungi.

Three LAB strains of above 100 isolates were chosen as the most active to inhibit the growth of *B. cinerea* in antagonistic test on potato dextrose agar medium. Then, a method has been developed to coat the cut off spinach and lettuce leaves with LAB isolates. The inoculum remained high for 8 days, and ranged about  $10^5$  and  $10^6$  cfu per 1g of leaves for spinach and lettuce, respectively. It occurred that treated leaves were less contaminated by mould fungi compared to untreated control.

In the next laboratory experiments, the lettuce and spinach leaves were coated with these bacteria, and then inoculated with *B. cinerea*. Three isolates of *B. cinerea* were studied. Leaf infection was evaluated 6, 10 and 15 days after inoculation. The inhibitory effect of three LAB isolates against grey mould development on lettuce leaves was found for one isolate of *B. cinerea*, obtained from tomato. The results were confirmed in glasshouse experiments on lettuce and spinach plants. Additionally, a significant effect of LAB on spinach growth was found. The fresh weight of plants treated with these bacteria was 20-40% higher compared to control. The increase depended on the bacteria isolate tested.

In conclusion, lettuce and spinach leaves coated by lactic acid bacteria can be food matrices as potential carriers of probiotic bacteria. Additionally, LAB can protect plants against gray mold caused by *B. cinerea*.

*This work was financed by Polish Ministry of Education and Science, task ZM/2/2018 (2018 -2023): "Development methods limiting the occurrence of microbiological contamination of ready-to-eat vegetables and fruit".*

1. Manjarres Melo JJ, Alvarez A, Ramirez C, Bolivar G (2021) Antagonistic activity of lactic acid bacteria against phytopathogenic fungi isolated from cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). *Curr Microbiol* 78: 1399-1408. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02416-w>
2. Manjarres Melo J.J., Alvarez A., Ramirez C., Bolivar G. 2021. Antagonistic activity of lactic acid bacteria against phytopathogenic fungi isolated from cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). *Current Microbiology* 78: 1399-1408. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02416-w>
3. Lamont JR, Wilkins O, Bywater-Ekegård M, Smith DL (2017) From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Biol Biochem* 111:1-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.015>