

Pola penggunaan asid amino sebagai kaedah terbaru saringan mikrob sebagai agen kawalan biologi yang berkesan terhadap patogen bawaan tanah

(Amino acid utilisation patterns as the newest method for an efficient screening of microbial biological control agents against soil-borne pathogens)

Nur Adliza Baharom, Ikeda Saki dan Masafumi Shimizu

Kata kunci: BCA, biokawalan, mikrob, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, tomato

Pengenalan

Penyakit tanaman merupakan salah satu faktor utama yang menjejaskan produktiviti tanaman. Dianggarkan 20 – 40% kehilangan hasil tanaman berpunca daripada jangkitan patogen seperti bakteria, virus dan kulat dengan kerugian hasil mencecah USD40 bilion setiap tahun. Penyakit bawaan tanah (*soil-borne disease*) seperti *Ralstonia* spp., *Fusarium* spp. dan *Rhizoctonia* spp. menyebabkan kehilangan hasil sebanyak 50 – 75% bagi tanaman penting seperti sayur-sayuran dan buah-buahan. Cabaran dalam diagnosis awal, perumah yang pelbagai, serta ketahanan patogen dalam tanah menjadikan penyakit ini sukar dikawal. Kebiasaannya, kawalan secara kimia digunakan, namun penggunaan racun kimia secara berpanjangan dan berleluasa (melebihi kekerapan dan dos yang disyorkan) menyebabkan pelbagai masalah seperti gangguan ekologi, ancaman kesihatan manusia, kerosakan ekosistem akuatik dan pengurangan mikroorganisma tanah yang bermanfaat. Oleh itu, strategi pengurusan yang inovatif dan berkesan amat perlu dibangunkan.

Penggunaan mikrob sebagai agen kawalan biologi bagi tujuan pengurusan penyakit tanaman adalah salah satu kaedah kawalan penyakit mesra alam yang telah lama diketengahkan dan kini semakin mendapat perhatian. Tumpuan penyelidikan mengenai mikrob sebagai agen kawalan biologi secara ringkasnya meliputi pengasingan dan pencirian mikrob (*isolation and characterisation*), pemahaman mengenai cara tindakan (*mode of action*), pengujian potensi mikrob di makmal (*in vitro evaluation*) dan di lapangan (*field evaluation*) dan seterusnya pembangunan formulasi mikrob bagi tujuan komersial. Secara umumnya, langkah pertama dalam pembangunan mikrob sebagai agen kawalan biologi selepas beberapa mikrob berpotensi diperoleh dari lapangan adalah melibatkan penilaian aktiviti antagonistik mikrob tersebut terhadap patogen secara *in vitro*. Mikrob yang menunjukkan prestasi terbaik di peringkat *in vitro* akan diuji keberkesanannya secara *in planta*. Namun, mikrob agen kawalan biologi semasa di peringkat *in vitro* tidak selalunya menunjukkan

prestasi yang sama semasa penilaian *in planta*. Kebiasaannya prestasi agen kawalan biologi merencatkan pertumbuhan patogen di peringkat *in vitro* adalah lebih baik berbanding dengan *in planta* disebabkan salah satu keadaan persekitaran semasa menjalankan penilaian *in vitro* adalah terkawal (*controlled environment*). Oleh itu, ketidaksamaan prestasi mikrob semasa di peringkat *in vitro* dan *in planta* menimbulkan keraguan para saintis terhadap prestasi mikrob itu yang sebenar dalam keupayaannya mengawal penyakit tanaman di lapangan kelak yang mana faktor persekitaran sukar dikawal.

Terdapat pelbagai cara tindakan secara semula jadi mikrob agen kawalan biologi dapat menghalang jangkitan patogen penyakit. Antaranya seperti antibiosis (interaksi biologi di mana satu organisma (contoh: mikrob agen kawalan biologi) menghasilkan metabolit seperti antibiotik yang menghalang pertumbuhan organisma lain (contoh: patogen), persaingan untuk mendapatkan nutrien dan ruang (*competition for nutrien and niche*) dan kerintangan sistemik teraruh (*Induced Systemic Resistance*). Penyaringan secara *in vitro* yang dijalankan menggunakan piring Petri seperti ujian kultur berpasangan atau *poison* agar melibatkan cara tindakan secara terus. Cara tindakan secara terus ini melibatkan ciri agen kawalan biologi seperti antibiosis melalui aktiviti antagonistik. Sebagai contoh, dalam persekitaran artifisial (buatan), mikrob agen kawalan biologi menghasilkan sebatian antimikrob bagi tujuan perencatan pertumbuhan patogen. Namun, semasa di persekitaran semula jadi (seperti *in planta*), sebatian antimikrob tidak semestinya dihasilkan, maka seterusnya tidak dapat merencatkan pertumbuhan patogen. Keadaan ini menyebabkan kegagalan mikrob agen kawalan biologi untuk mengawal penyakit semasa di peringkat tersebut. Oleh itu, eksplorasi cara tindakan pertahanan mikrob agen kawalan biologi di peringkat *in vitro* adalah amat penting dibangunkan sebagai indikator prestasi mikrob sebagai agen kawalan biologi yang berkesan. Ini adalah supaya mikrob agen kawalan biologi yang berpotensi tidak keciciran pada peringkat awal pemilihan.

Reka bentuk kajian dan mikrob digunakan

Persaingan mendapatkan nutrien merupakan salah satu mekanisme pertahanan mikrob agen kawalan biologi terhadap jangkitan penyakit terutamanya penyakit bawah tanah. Kebolehan mikrob agen kawalan biologi bersaing dengan patogen penyakit untuk mendapatkan sumber makanan (nutrien) merupakan satu ciri penting dalam kejayaan mikrob agen kawalan biologi merencatkan pertumbuhan patogen seterusnya mengawal jangkitan penyakit. Dalam kajian ini, agen kawalan biologi yang dipilih ialah *Pseudomonas fluorescens* complex (PF).

Bagi menilai hubung kait antara kebolehpayaan PF bersaing bagi mendapatkan nutrien dengan kebolehpayaan mengawal penyakit dalam kajian ini, 43 strain PF digunakan sebagai model mikrob agen kawalan biologi dan *Ralstonia solanacearum* strain 101 (RS 101) agen penyebab penyakit layu bakteria tomato [*tomato bacterial wilt* (TBW)] sebagai model patogen. PF dipencilkan daripada rizosfera

yang didapati dari sumber pelbagai tanaman dari Plot Penyelidikan Tanaman di Gifu University, Jepun (Jadual 1). Manakala RS 101 diperoleh daripada koleksi mikrob di Makmal Patologi Gifu University (Dr. Masafumi Shimizu).

Jadual 1. Senarai strain PF sebagai model mikrob agen kawalan biologi

Strains	Sumber	Strain bakteria	Kesamaan (%)	No. aksesi
GSL-Asn02	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Pseudomonas kribbensis</i>	99.83	CP029608
GSL-Gln02	<i>S. lycopersicum</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.82	CP029608
GSL-betaAla01	<i>S. lycopersicum</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.83	CP029608
GSL-Glu02	<i>S. lycopersicum</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Ala03	<i>Allium macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.82	CP029608
GAM-Ala04	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.83	CP029608
GAM-betaAla05	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.82	CP029608
GAM-Arg06	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.82	CP029608
GAM-Arg07	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.82	CP029608
GAM-Asn03	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.83	CP029608
GAM-Asn06	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Cit08	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.82	CP029608
GAM-His07	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.82	CP029608
GAM-Ile04	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.91	CP029608
GAM-Ile05	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Lys02	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Lys03	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.81	CP029608
GAM-Met07	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.81	CP029608
GAM-Phe06	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.83	CP029608
GAM-Ser04	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Ser06	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	100	CP029608
GAM-Trp05	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. umsongensis</i>	99.82	CP029608
GAM-Trp08	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Leu03	<i>A. macrostemon</i>	<i>P.kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Leu05	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Leu06	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Glu03	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608

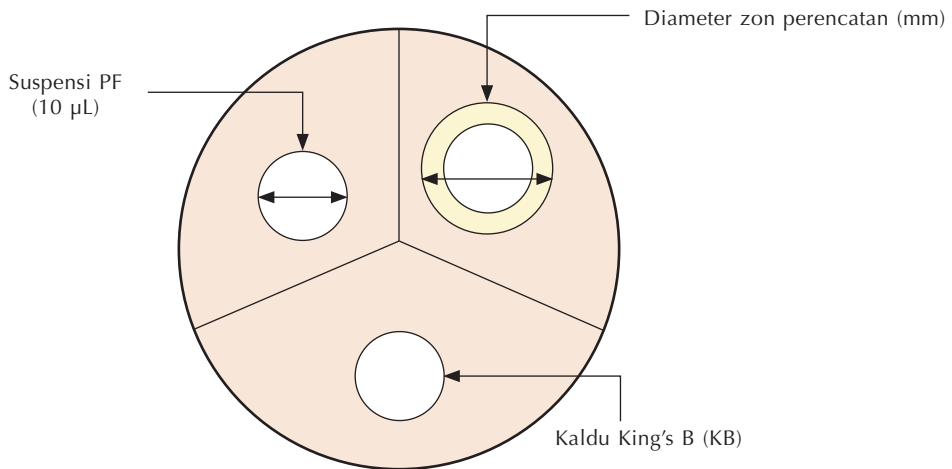
(Samb.)

Jadual 1. (Samb.)

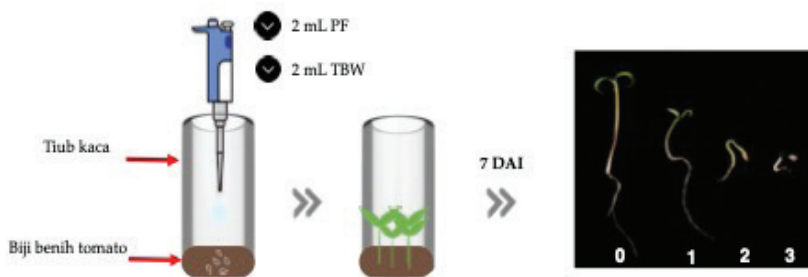
Strains	Sumber	Strain bakteria	Kesamaan (%)	No. aksesi
GAM-Glu04	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Glu05	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.82	CP029608
GAM-Glu06	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.69	CP029608
GAM-Glu07	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Glu08	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Val05	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Tyr04	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Tyr05	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Tyr06	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. yamanorum</i>	99.8	CP029608
GAM-Tyr07	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.9	CP029608
GAM-Tyr08	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.59	CP029608
GAM-Tyr09	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.82	CP029608
GAM-Tyr10	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. aurylsulfatiphila</i>	99.17	KY462012
GAM-Glu09	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.83	CP029608
GAM-Val07	<i>A. macrostemon</i>	<i>P. kribbensis</i>	99.20	CP029608
GUFP-SA5	<i>S. americanum</i>	<i>P. brassicaerum</i>	99.71	AF100321

Korelasi antara aktiviti antagonistik PF secara in vitro dengan keberkesannya mengawal jangkitan patogen layu bakteria secara in planta

Dalam kajian ini, korelasi antara aktiviti antagonistik PF secara in vitro dan keberkesannya mengawal penyakit layu bakteria telah diuji melalui ujian piring Petri menggunakan kaedah *Agar Well Diffusion* (Gambar rajah 1) dan ujian efikasi secara *in planta* (Gambar rajah 2) menggunakan analisis korelasi Pearson. Keputusan kajian menunjukkan tiada korelasi signifikan ($r = 0.17$) antara aktiviti antagonistik PF secara in vitro dengan keberkesannya mengawal penyakit layu bakteria. Ini menunjukkan bahawa pemilihan mikrob agen kawalan biologi melalui ujian aktiviti antagonistik sahaja menyebabkan mikrob agen kawalan biologi berpotensi terlepas daripada pemilihan. Ini kerana ujian penyaringan secara *in vitro* menggunakan aktiviti antagonistik sebagai indikator hanya mengutamakan pemilihan agen kawalan biologi dengan ciri tindakan pertahanan secara antibiosis sahaja dan mengetepikan cara tindakan (*mode of action*) lain. Ini kemungkinan agen biologi tersebut mempunyai beberapa cara tindakan selain daripada antibiosis.



Gambar rajah 1. Ilustrasi kaedah Agar well diffusion di dalam piring Petri yang mengandungi King's B medium bagi penyingkiran aktiviti antagonistik PF terhadap agen penyebab layu bakteria (penyakit TBW)



Gambar rajah 2. Ilustrasi ujian efikasi keberkesanan PF dalam pengawalan penyakit layu bakteria (TBW)

Pola penggunaan asid amino oleh *Pseudomonas fluorescens complex* (PF)

Asid amino merupakan salah satu nutrien penting dalam pertumbuhan mikrob kerana ia berfungsi sebagai blok binaan utama bagi pembentukan protein. Protein memainkan peranan penting dalam pelbagai proses biologi, termasuk pembentukan enzim, struktur selular dan molekul isyarat yang diperlukan untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhan mikrob. Selain itu, asid amino juga terlibat dalam penghasilan tenaga dan metabolisme selular, menjadikannya komponen yang tidak boleh dikesampingkan bagi memastikan fungsi mikrob yang optimum. Asid amino juga berkait rapat dengan aktiviti metabolik yang penting untuk mekanisme kawalan biologi seperti sintesis sebatian antimikrob dan enzim pertahanan. Persaingan untuk mendapatkan asid amino akan mempengaruhi komposisi komuniti mikrob, di mana mikrob yang lebih cekap dalam mendapatkan atau menggunakan asid amino akan mendominasi. Perkara ini memainkan peranan penting dalam ekologi mikrob dan aplikasi seperti agen kawalan biologi.

Partial Least Square Regression Analysis (PLSR) digunakan untuk menilai hubung kait antara pola penggunaan asid amino dan keberkesanan PF mengawal penyakit layu bakteria. Bagi menilai pola penggunaan asid amino, pola penggunaan 21 asid amino oleh PF telah diuji menggunakan 96 *well plate* (Jadual 2). Sebanyak 100 μL suspensi PF, OD600 = 0.05 (ca. 10^7 CFU mL^{-1}) diinokulasi ke dalam 96 *well plate* yang mengandungi 100 μL $\frac{1}{2}$ M63 yang disuplementasi dengan asid amino ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1 g; KH_2PO_4 , 6.8 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.25 mg; HEPES, 11.916 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.06 g, pH 7.0) pada kepekatan 2 mM. Sebelum digunakan, asid amino disterilkan dengan penuras steril jenis 0.22 μm *syringe filter* (Millipore, USA). Medium $\frac{1}{2}$ M63 bebas dengan asid amino digunakan sebagai kawalan. Pola penggunaan asid amino dinilai menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Pertumbuhan relatif bakteria} = \frac{\text{OD630 dalam medium } \frac{1}{2} \text{ M63} + \text{asid amino}}{\text{OD630 dalam medium } \frac{1}{2} \text{ M63}}$$

Di mana, ketumpatan optik bakteria (OD) dinilai menggunakan Microplate reader (MPR-A100: AS ONE, JAPAN).

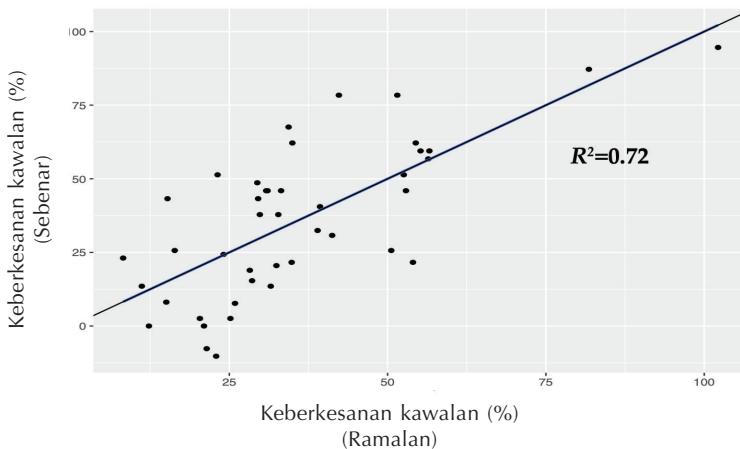
Jadual 2. Senarai asid amino yang digunakan dalam ujian pola penggunaan

Asid amino	Formula kimia	Jisim (g/mol)
L-alanine	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$	89.09
β -alanine	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$	89.09
L-arginine	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$	174.2
L-asparagine	$\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	150.13
L-citrulline	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3$	175.19
L-glutamine	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$	146.14
L-glycine	$\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$	75.07
L-histidine	$\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$	155.15
L-isoleucine	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$	131.17
L-lysine	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$	146.19
L-methionine	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$	149.21
L-phenylalanine	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$	165.19
L-proline	$\text{C}_4\text{H}_8\text{NCOOH}$	115.13
L-serine	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_3$	105.09
L-threonine	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$	119.12
L-tryptophan	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	204.23
L-valine	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$	117.15
L-leucine	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$	131.17
L-glutamic Acid	$\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$	147.13
L-tyrosine	$\text{HOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$	181.19
L-cysteine	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$	121.16

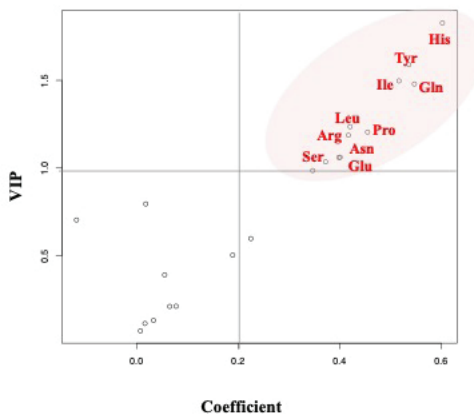
Pola penggunaan asid amino sebagai kaedah terbaru penyaringan mikrob sebagai agen kawalan biologi

Melalui analisis PSLR, didapati pola penggunaan asid amino dapat meramal keberkesanan PF mengawal penyakit layu bakteria pada ketetapan yang tinggi iaitu $R^2 = 0.72$ (Rajah 1). Ini menunjukkan bahawa pola penggunaan asid amino berpotensi digunakan sebagai kaedah penilaian prestasi keberkesanan mikrob agen kawalan biologi terhadap patogen bawaan tanah. Penggunaan asid amino yang baik oleh mikrob menunjukkan kebolehan mikrob agen kawalan biologi mengkoloni rizosfera tanah dengan cekap. Ini seterusnya mengubah dinamik komuniti mikrob bermanfaat dan akhirnya merencatkan pertumbuhan patogen.

Analisis lanjut berdasarkan nilai *Variable Importance in Projection* (VIP) dan *Regression Coefficient* (RC) menunjukkan antara 21 asid amino, terdapat 10 asid amino yang memainkan peranan penting dalam pengawalan penyakit TBW iaitu histidina (His), diikuti oleh tirosina (Tyr), glutamin (Gln), isoleusina (Ile), asid glutamik (Glu), prolina (Pro), leucina (Leu), arginin (Arg), asparagina (Asn) dan serina (Ser) (Rajah 2).



Rajah 1. Model ramalan keberkesanan kawalan PF terhadap layu bakteria tomato menggunakan data profil penggunaan asid amino ($R^2 = 0.72$)



Rajah 2. Nilai VIP dan RC untuk model ramalan keberkesanan kawalan PF terhadap layu bakteria tomato menggunakan data profil penggunaan asid amino. Warna merah menunjukkan 10 asid amino penting dalam model ramalan

Kesimpulan

Pola penggunaan asid amino berpotensi digunakan sebagai kaedah terbaharu yang berkesan untuk penyaringan mikrob sebagai agen kawalan biologi terhadap penyakit layu bakteria (TBW) berbanding dengan penggunaan hanya satu cara tindakan (*mode of action*) seperti antibiosis. Kajian ini menunjukkan bahawa mikrob yang berdaya saing dalam menggunakan asid amino berpotensi memberikan kawalan penyakit yang baik terhadap TBW. Terdapat 10 asid amino yang memainkan peranan penting dalam pengawalan penyakit TBW iaitu histidina (His), diikuti oleh tirosina (Tyr), glutamin (Gln), isoleusina (Ile), asid glutamik (Glu), prolina (Pro), leusina (Leu), arginin (Arg), asparagina (Asn) dan serina (Ser). Maklumat ini adalah penting dalam pemilihan dan pembangunan mikrob sebagai agen kawalan biologi yang efektif dalam pengurusan penyakit tanaman.

Bibliografi

- Besset-Manzoni, Y., Joly, P., Brutel, A., Gerin, F., Soudière, O., Langin, T., & Prigent-Combaret, C. (2019). Does in vitro selection of biocontrol agents guarantee success in planta? A study case of wheat protection against *Fusarium* seedling blight by soil bacteria. *PLOS ONE*, 14(12), e0225655.
- Clough, S. E., Jousset, A., Elphinstone, J. G., & Friman, V.-P. (2022). Combining in vitro and in vivo screening to identify efficient *Pseudomonas* biocontrol strains against the phytopathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum*. *Microbiology Open*, 11(2), e1283.
- Collinge, D. B., Jensen, D. F., Rabiey, M., Sarrocco, S., Shaw, M. W., & Shaw, R. H. (2022). Biological control of plant diseases – What has been achieved and what is the direction? *Plant Pathology*, 71(5), 1024–1047.

- Höfte, M., & Altier, N. (2010). *Fluorescent pseudomonads* as biocontrol agents for sustainable agricultural systems. *Research in Microbiology*, 161(6), 464–471.
- Legein, M., Smets, W., Vandenheuvel, D., Eilers, T., Muyshondt, B., Prinsen, E., Samson, R., & Lebeer, S. (2020). Modes of action of microbial biocontrol in the phyllosphere. *Frontiers in Microbiology*, 11.
- Marian, M., Nishioka, T., Koyama, H., Suga, H., & Shimizu, M. (2018). Biocontrol potential of *Ralstonia* sp. TCR112 and *Mitsuaria* sp. TWR114 against tomato bacterial wilt. *Applied Soil Ecology*, 128, 71–80.
- Nishioka, T., Marian, M., Kobayashi, I., Kobayashi, Y., Yamamoto, K., Tamaki, H., Suga, H., & Shimizu, M. (2019). Microbial basis of Fusarium wilt suppression by Allium cultivation. *Scientific Reports*, 9(1), 1715.
- Simons, M., Permentier, H. P., de Weger, L. A., Wijffelman, C. A., & Lugtenberg, B. J. J. (1997). Amino acid synthesis is necessary for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens* strain WCS365. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 10(1), 102–106.
- Yariyama, S., Ando, S., Seo, S., Nakaho, K., Miyashita, S., Kanayama, Y. and Takahashi, H. (2019). Exogenous application of L-histidine suppresses bacterial diseases and enhances ethylene production in rice seedlings. *Plant Pathol*, 68, 1072–1078.

Ringkasan

Keberkesanan mikrob sebagai agen kawalan biologi dalam pengurusan penyakit tanaman di lapangan sering kali dilaporkan tidak konsisten dengan prestasi aktiviti antagonistik semasa di peringkat in vitro. Bagi membangunkan kaedah saringan yang lebih tepat dan berkesan untuk pemilihan mikrob sebagai agen kawalan biologi, satu kajian telah dibuat untuk menilai hubungan kait antara beberapa ciri agen kawalan biologi strain *Pseudomonas fluorescens* kompleks (PF), seperti aktiviti antibakteria secara in vitro, penggunaan 21 jenis asid amino (triptofan, valin, sistein, treonina, fenilalanina, metionina, lisina, tirosina, asid glutamik, leusina, isoleusina, glisina, sitrulina, alanina, β -alanina, serina, prolina, histidina, glutamina, asparagin dan arginin) sebagai sumber nutrien dan keberkesanan dalam mengawal patogen penyakit layu bakteria tomato (TBW). Menggunakan analisis *Partial Least Square Regression* (PLSR), model ramalan berdasarkan keupayaan strain PF menggunakan asid amino (tirosina, asid glutamik, leusina, serina, prolina, isoleusina, histidina, glutamina, asparagina dan arginine) menunjukkan model dengan ketepatan yang tinggi ($R^2 = 0.72$). Keputusan ini menunjukkan bahawa pola penggunaan asid amino boleh menjadi indikator utama bagi saringan mikrob yang berkesan sebagai agen kawalan biologi untuk penyakit TBW, yang merupakan patogen bawaan tanah.

Summary

The inconsistent efficacy of microbial biocontrol agents in managing plant diseases compared to their in vitro antagonistic activity against plant pathogens has been frequently reported. To develop more efficient screening methods, this study investigated the relationship between several biocontrol-related traits of *Pseudomonas fluorescens* complex (PF) strains, including in vitro antibacterial activity, a forecasting model based on nutrient utilization of 21 amino acids (tryptophan, valine, cysteine, threonine, phenylalanine, methionine, lysine, tyrosine, glutamic acid, leucine, isoleucine, glycine,

citrulline, alanine, β -alanin, serine, proline, isoleucine, histidine, glutamine, asparagine and arginine) and biocontrol efficacy against the tomato bacterial wilt pathogen (TBW). Using Partial Least Square Regression (PLSR) analysis, a model based on the ability to utilise specific amino acids (tyrosine, glutamic acid, leucine, serine, proline, isoleucine, histidine, glutamine, asparagine and arginine) demonstrated a strong predictive capacity for biocontrol efficacy, with a good model fit ($R^2 = 0.72$). These findings suggest that amino acid utilisation patterns may serve as a key indicator for effective screening of microbial biological control agents for TBW, which is a soil-borne pathogen.

Pengarang

Nur Adliza Baharom
Pusat Penyelidikan Hortikultur, Ibu Pejabat MARDI
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor
E-mel: nuradliza@mardi.gov.my

Ikeda Saki
Faculty of Applied Biological Science
Gifu University, Yanagido 1-1, 501-1112, Gifu City, Japan

Masafumi Shimizu
Faculty of Applied Biological Science
Gifu University, Yanagido 1-1, 501-1112, Gifu City, Japan