



Luonnonvara- ja biotalouden tutkimus 32/2026

Vesiruton bakteerit hyötykäyttöön

Anna-Liisa Välimaa, Satu Latvala ja Lea Hiltunen

Luonnonvara- ja biotalouden tutkimus 32/2026

Vesiruton bakteerit hyötykäyttöön

Anna-Liisa Välimaa, Satu Latvala ja Lea Hiltunen



Euroopan unionin
osarahoittama



Viittausohje:

Välimaa, A.-L., Latvala, S. & Hiltunen, L. 2026. Vesiruton bakteerit hyötykäyttöön. Luonnonvara- ja biotalouden tutkimus 32/2026. Luonnonvarakeskus. Helsinki. 40 s.



ISBN 978-952-419-182-1 (Verkkójulkaisu)

ISSN 2342-7639 (Verkkójulkaisu)

URN <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-419-182-1>

Copyright: Luonnonvarakeskus (Luke)

Kirjoittajat: Anna-Liisa Välimaa, Satu Latvala ja Lea Hiltunen

Julkaisija ja kustantaja: Luonnonvarakeskus (Luke), Helsinki 2026

Julkaisuvuosi: 2026

Kannen kuva: Ritva Nilivaara, Syke

Tiivistelmä

Anna-Liisa Välimaa¹, Satu Latvala² ja Lea Hiltunen¹

¹ Luonnonvarakeskus (Luke), Paavo Havaksen tie 3, 90570 Oulu

² Luonnonvarakeskus (Luke), Tietotie 4, 31600 Jokioinen

Kanadanvesirutto (*Eloдея canadensis*) on laajalle levinnyt haitallinen vieraslaji Euroopassa, ja Suomessa se on levinnyt moniin järviin Koillismaalla sekä Etelä- ja Keski-Suomessa. Vesirutto-biomassan käyttöä erilaisiin sovelluksiin on selvitetty, mutta vesiruton lehtien mikrobisyhteisöjä ei ole juurikaan tutkittu. Tässä työssä selvitimme vesiruttokasvustoista eristettyjen bakteerien hyödyntämis- ja tuotteistamismahdollisuuksia rehu-, elintarvike-, biostimulantti- ja biotorjuntasovelluksiin.

Työssä hyödynnettiin vuonna 2019 Vuotunki-järvestä Koillismaalta kerättyjä näytteitä ja niistä luotua 129 isolaattia käsittävää kokoelmaa. Valtaosa kolmestakymmenestä sekvensoidusta bakteeri-isolaatista pystyttiin tunnistamaan sukutasolle 16S rRNA -geenisekvenssin perusteella. Tunnistetut isolaatit edustivat kymmentä eri bakteerisukua, joista osa on Suomessa melko tuntemattomia, kuten *Duganella*, *Exiguobacterium* ja *Pantoea*. Entsyymiaktiivisuustestauksissa sellulaasiaktiivisuutta osoittivat *Bacillus*-, *Duganella*- ja *Exiguobacterium* -sukujen isolaatit, proteaasiaktiivisuutta *Bacillus*-, *Exiguobacterium*-, *Pseudomonas*- ja *Lactococcus*-sukujen isolaatit sekä fytaasiaktiivisuutta *Pseudomonas*- ja *Pantoea* -sukujen isolaatit. Jatkotutkimusten kannalta kiinnostavaa on, että jotkut isolaatit olivat aktiivisempia 15°C:ssa kuin 20°C:ssa. Tämä antaa viitteitä siitä, että kyseiset isolaatit voivat olla psykrotrofisia bakteereita, joiden tuottamat entsyymit toimivat matalissa lämpötiloissa. Tällaisten entsyymien avulla on mahdollista vähentää prosessien energiankulutusta.

Vesirutosta eristettyjen ja maljakokeissa (*in vitro*) lupaavia tuloksia antaneiden bakteeri-isolaattien taudinestovaikutuksia selvitettiin kahdessa isäntäkasvi-taudinaiheuttaja-systeemissä kontrolloiduissa olosuhteissa (*in vivo*). Neljä *in vitro* -kokeissa taudinestovaikutusta osoittanutta bakteeri-isolaattia hillitsi *Fusarium*-sienen aiheuttaman tyvitaudin oireiden kehittymistä ohralla ja yksi isolaatti möhjuurioireiden kehittymistä kiinankaalilla *in vivo* -kokeissa. Isolaattien taudinestovaikutusta ei pystytty linkittämään niiden entsyymiaktiivisuuksiin eikä isolaatteilla havaittu biostimulanttivaikutusta.

Tässä työssä eristetyillä matalissa lämpötiloissa entsyymejä tuottavilla bakteeri-isolaateilla on hyödyntämismahdollisuuksia paitsi elintarvike- ja rehu tuotannossa myös monilla muilla sovellusaloilla. Lisätutkimusta kuitenkin tarvitaan entsyymien puhdistamiseen ja niiden ominaisuuksien karakterisointiin. Lisäksi havaitsimme joillakin isolaateilla taudinestovaikutusta huomattavia satotappioita aiheuttavia kasvitaudinaiheuttajia vastaan. Kyseisten isolaattien testauksesta biotorjuntasovelluksissa kannattaa jatkaa.

Työ toteutettiin osana Biomassat kiertoon Koillismaalla -hanketta, jonka päätoteuttaja oli Koillis-Suomen kehittämissyhtiö Naturpolis Oy ja osatoteuttajia Luonnonvarakeskus, Suomen ympäristökeskus, Oulun Yliopisto ja ProAgria Oulu ry. Hanke sai rahoitusta Euroopan unionilta Uudistuva ja osaava Suomi 2021–2027-ohjelmasta Pohjois-Pohjanmaan liiton kautta.

Asiasanat: *Eloдея*, vesirutto, *Duganella*, *Exiguobacterium*, *Pantoea*, entsyymiaktiivisuus, taudinestovaikutus, biostimulantti, biotorjunta, sekvenssianalyysi

Abstract

Anna-Liisa Välimaa¹, Satu Latvala² and Lea Hiltunen¹

¹ Natural Resources Institute Finland (Luke), Paavo Havaksen tie 3, 90570 Oulu

² Natural Resources Institute Finland (Luke), Tietotie 4, 31600 Jokioinen

Canadian waterweed (*Elodea canadensis*) is a widespread invasive alien species in Europe, and it has colonized numerous lakes in northeastern, southern and central Finland. Although the potential utilisation of *E. canadensis* biomass for various applications has been investigated, little is known about the microbial communities inhabiting its leaves. In the present study, we examined the potential for utilising bacteria isolated from *E. canadensis* vegetation for feed, food, biostimulant, and biocontrol applications.

The study was based on samples collected from Lake Vuotunki in northeastern Finland in 2019 and on the collection of 129 bacterial isolates obtained from them. Thirty of the most interesting isolates were selected for 16S rRNA gene sequencing, and most of them were identified to the genus level. In total, the identified isolates represented ten different genera. These included genera that are relatively poorly known in Finland, such as *Duganella*, *Exiguobacterium* and *Pantoea*. Enzyme activity assays showed that isolates belonging to the genera *Bacillus*, *Duganella* and *Exiguobacterium* exhibited cellulase activity; isolates representing *Bacillus*, *Exiguobacterium*, *Pseudomonas* and *Lactococcus* showed protease activity; and isolates belonging to *Pseudomonas* and *Pantoea* exhibited phytase activity. Notably, many isolates demonstrated similar or even higher enzyme activity at 15°C than at 20°C suggesting that they may be psychrotrophic bacteria that are able to function effectively at low temperatures. As enzymes active at low temperatures may reduce the energy consumption of industrial and biotechnological processes, psychrotrophic bacteria may have considerable potential for utilisation and commercialisation in a wide range of applications.

The pathogen-inhibitory effects of bacterial isolates recovered from *E. canadensis* were initially assessed *in vitro* on agar plates. Isolates giving promising results were subsequently evaluated under controlled conditions (*in vivo*) in two host plant-pathogen systems. In growth chamber experiments, four bacterial isolates inhibited the development of *Fusarium* base rot symptoms in barley and one isolate suppressed the development of club root symptoms caused by *Plasmodiophora brassicae* in Chinese cabbage. The observed disease-suppressive effects could not be linked to enzyme activity of the bacteria, and none of the isolates promoted seed germination or early plant growth. However, the results encourage further study of the identified isolates.

The work was conducted as part of the *Biomass Cycle in the Northeast Region* project coordinated by Naturpolis Oy, the regional development agent for Koillismaa, in collaboration with the Natural Resources Institute Finland (Luke), the Finnish Environment Institute (Syke), the University of Oulu and ProAgria Oulu. The project received funding from the European Union's *Renewing and Skilled Finland 2021–2027* programme through the Regional Council of Northern Ostrobothnia.

Keywords: *Elodea*, Canadian waterweed, *Duganella*, *Exiguobacterium*, *Pantoea*, enzyme activity, pathogen inhibition, biostimulant, biocontrol, sequence analysis

Sisällys

1. Johdanto	6
2. Näytteenotto ja säilytys	7
3. Bakteerilajin määrittäminen sekvensoimalla	8
4. Vesirutosta eristettyjen bakteerien kasvunestovaikutukset.....	11
4.1. Elintarvikepatogeenit	11
4.2. Kasvitaudinaiheuttajat	11
5. Vesirutosta eristettyjen bakteerien entsyymiaktiivisuus	12
5.1. Tausta	12
5.2. Aineisto ja menetelmät	13
5.3. Tulokset ja pohdinta.....	14
6. Vesirutosta eristettyjen bakteerien fosfaatin liuotuskyky	17
6.1. Tausta	17
6.2. Aineisto ja menetelmät	17
6.3. Tulokset ja pohdinta.....	17
7. Vesirutosta eristettyjen bakteerien bitorjunta- ja biostimulanttivaikutukset	19
7.1. Tausta.....	19
7.2. Aineisto ja menetelmät	19
7.2.1. Vaikutukset kasvitauteihin.....	20
7.2.2. Vaikutukset kasvien kasvuun.....	20
7.3. Tulokset ja pohdinta.....	21
8. Kiinnostavimmat bakteerit jatkokehityksen kannalta	24
8.1. Duganella.....	24
8.2. Exiguobacterium	24
8.3. Pantoea.....	25
9. Hyödyntämis- ja tuotteistamismahdollisuudet.....	27
9.1. Entsyymien ominaisuuksista.....	27
9.1.1. Sellulaasi	27
9.1.2. Proteaasi.....	28
9.1.3. Lakkaasi.....	28
9.1.4. Fytaasi.....	29
9.2. Vesirutosta eristettyjen bakteeri-isolaattien tuottamien entsyymien hyödyntämispotentiaali	30
10. Päätelmät.....	31
Viitteet.....	32

1. Johdanto

Kanadanvesirutto (*Elodea canadensis*) on laajalle levinnyt haitallinen vieraslaji Euroopassa (Propuk ym. 2026). Suomessa se on levinnyt moniin Koillismaan sekä Etelä- ja Keski-Suomen järviin, joissa se muodostaa vesien käyttöä ja monimuotoisuutta haittaavia kasvustoja (Karjalainen ym. 2017, Nilivaara ym. 2022).

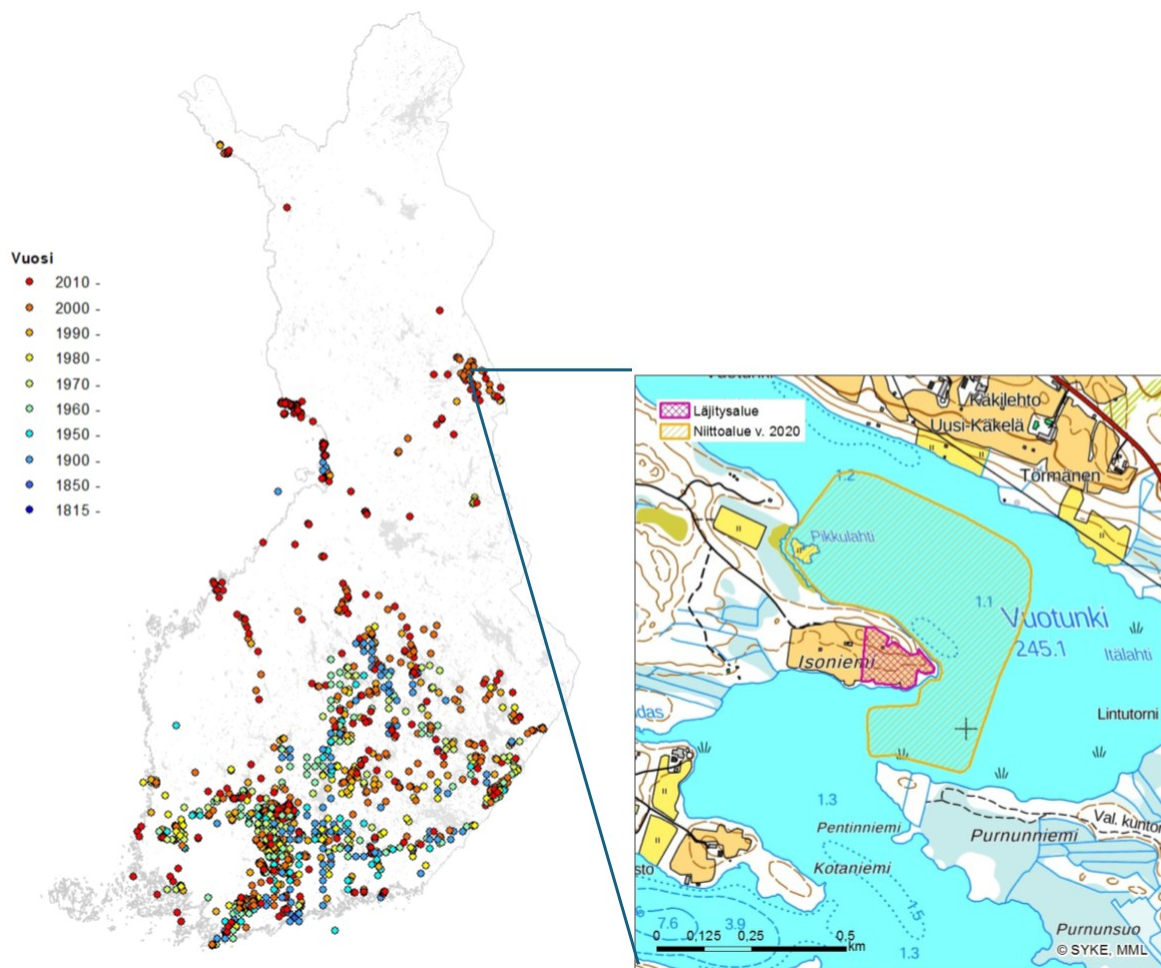
Vesirutto valtaa tehokkaasti elintilaa vesistöissä, minkä oletetaan ainakin osittain perustuvan vesiruton allelopaattisiin ominaisuuksiin ts. sen kykyyn tuottaa yhdisteitä, kuten monien epifyyttisten levien ja syanobakteerien kasvua estäviä fenolisia yhdisteitä (Erhard 2005, Erhard & Gross 2006). Vesiruton lehtien pinnalla on lisäksi havaittu mikrobeja, jotka voivat suojata vesiruttoa kemiallisten aineiden vaikutuksilta (Whitfort 1982, Bowmer ym. 1995). Tarkemmin vesiruton lehtien mikrobiyhteisöjä ei ole kuitenkaan tutkittu. Aiemmissa *Elodea*-hankkeissa havaitsimme, että vesiruton pinnalla kasvaa erilaisia mikrobeja hyvinkin kiinteinä kasvustoina (Välimaa 2017) ja vesirutosta eristetyt mikrobi-isolaatit pystyvät hillitsemään kasvipatogeenien kasvua *in vitro* -oloissa (Hiltunen & Virtanen 2017). Alustavien selvitysten perusteella näyttää siltä, että vesirutosta eristetyt bakteerit kykenevät myös tuottamaan laajan kirjon erilaisia entsyymejä (Hiltunen & Välimaa 2022).

Tässä työssä selvitimme vesiruttokasvustoista eristettyjen bakteerien hyödyntämis- ja tuotestamismahdollisuuksia rehu-, elintarvike-, biostimulantti- ja biotorjuntasovelluksiin. Työssä käytetyt bakteeri-isolaatit olivat peräisin aiemmin Vuotunki-järvestä Koillismaalta kerätyistä näytteistä ja niistä luodusta 129 isolaattia käsittävästä kokoelmasta.

2. Näytteenotto ja säilytys

Vesiruttonäytteet kerättiin Vuotunki-järvestä Koillismaalta kesä- ja elokuussa 2019 (Kuva 1). Näytteistä eristettiin mikrobeja käyttäen eri kasvatusalustoja [perunadekstroosi-agar (PDA, Neogen, Iso-Britannia), Plate Count -agar (PCA, Neogen, Iso-Britannia), de Man–Rogosa–Sharpe-agar (MRSA, Neogen, Iso-Britannia) ja Lungby-agar (Lungby, Oxoid Ltd, Iso-Britannia), joka sisälsi L-kysteiinihydrokloridimonohydraattia (Sigma-Aldrich, USA)] ja eri inkubointilämpötiloja (6 °C, 15 °C, 25 °C, 30 °C). Isolaatteja siirrettiin useita kertoja tuoreille kasvatusalustoille tarpeen mukaan puhtaiden viljelmien saamiseksi. Isolaatit säilytettiin myöhempää käyttöä varten -80 °C:ssa kryohelmillä (PRO-LAB Diagnostics, ON, Kanada) tai glyserolistokkeina [765 µl perunadekstroosiliemessä (PDB, Neogen, Iso-Britannia) / tryptonisoijaliemessä (TSB, Lab M Ltd, Iso-Britannia) / M.R.S.-liemessä kasvatettua isolaattia + 235 µl 85 % glyserolia] tai kryoputkissa PDA-kasvustokiekkoina.

Näytteistä eristettiin yhteensä 217 bakteeri- ja sieni-isolaattia, joista 129 otettiin talteen jatko-testauksia varten. Isolaateista noin kaksi kolmannesta oli bakteereja.



Kuva 1. Vasemmalla kanadanvesiruton (*E. canadensis*) esiintymät Suomessa vuodesta 1815 lähtien ja oikealla näytteenottoalueen sijainti Vuotunki-järvessä keltaisella raidoituksella merkittynä (mukailtu Huusela-Veistola ym. 2020 ja Nilivaara ym. 2022).

3. Bakterilajin määrittäminen sekvensoimalla

Bakterilajien tunnistamiseksi mielenkiintoisimmat isolaatit sekvensoitiin. Tutkittavat isolaatit otettiin säilytyksestä PDA-maljoille, joilla niitä kasvatettiin 21 °C:ssa 3 vrk. DNA-eristystä varten bakteerinäytteet otettiin maljoilta steriilisti 1:n tai 10 µl:n viljelysilmukoilla. DNA eristettiin Omega E.Z.N.A. SP Plant DNA -kitin (Omega Bio-tek, Inc., USA) ohjeen mukaisesti poikkeuksena DNA:n eluointivaihe, joka tehtiin kaksi kertaa 60 µl:lla eluointipuskuria (65 °C), puskurin inkubointi 5 minuuttia ennen sentrifugointia. Eluoidut DNA:t yhdistettiin ja DNA-pitoisuudet mitattiin spektrofotometrillä (Implen Nanophotometer P-Class, Implen GmbH, Saksa). Lajimäärittämistä varten bakteeri-DNA:t monistettiin ensin PCR:llä. Jokaisesta näytteestä tehtiin kaksi rinnakkaista PCR-reaktiota. Alukkeina käytettiin bakteerien 16S rRNA-geenin vaihtelevalle V4-alueelle suunniteltuja alukkeita 515F (GTGYCAGCMGCCGCGGTAA) (Parada ym. 2016) ja 806R (GGACTACNVGGGTWTCTAAT) (Aprill ym. 2015).

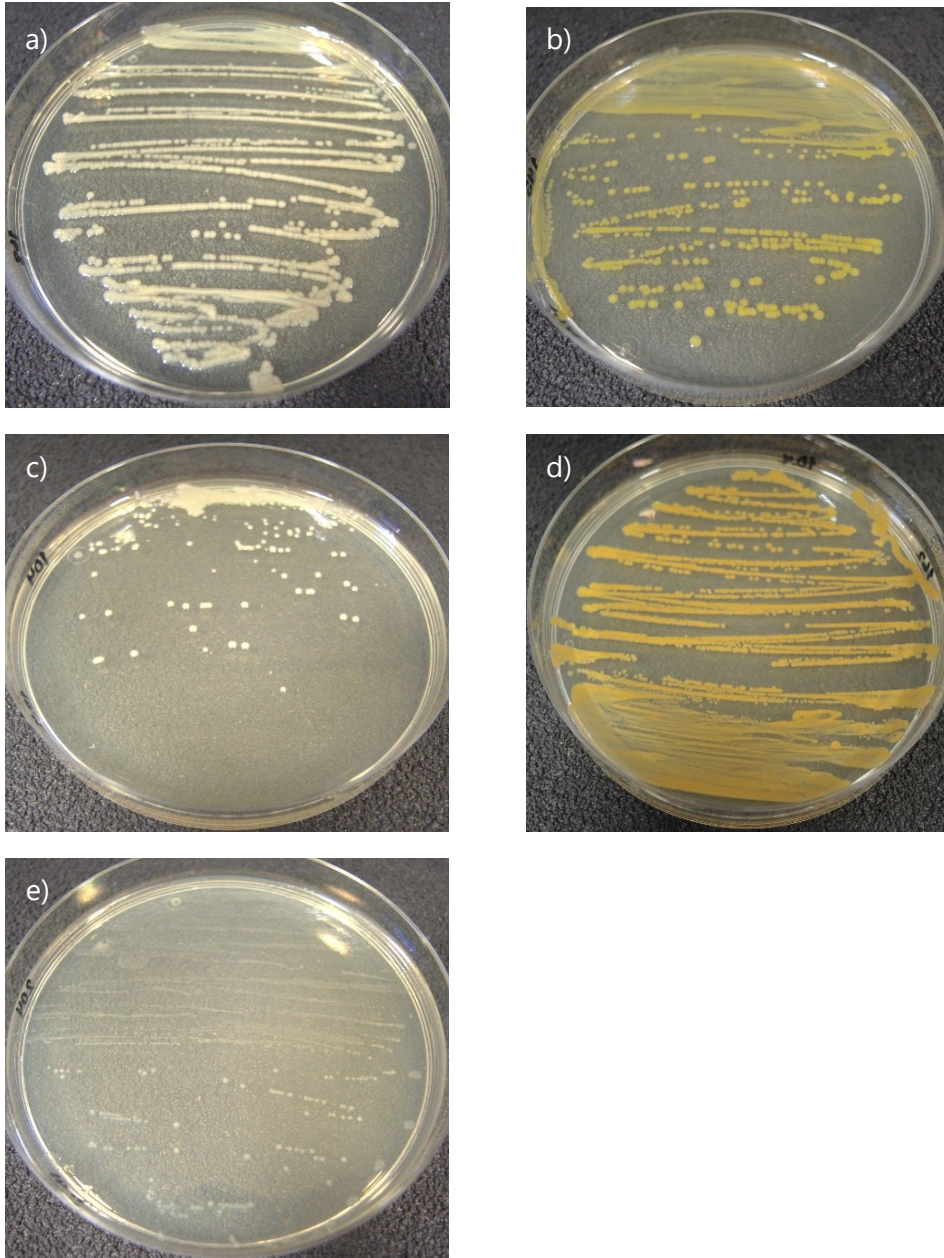
PCR-reaktiot sisälsivät 0,5 µl Dream Taq DNA Polymeraasia 1 x reaktiopuskurissa (Thermo Scientific, Liettu), 200 µM dNTP-seosta, 250 nM kumppaakin aluketta, ja noin 20 ng bakteeri-DNA:ta 25 µl:n reaktiutilavuudessa. PCR-ohjelma oli seuraava: alkudenaturaatio 94 °C 3 min; 35 sykliä 94 °C 45 s, anniilaukset 50 °C 60 s, ekstensio 72 °C 90 s; lopuksi ekstensio 72 °C 10 minuuttia.

Samasta näytteestä tehdyt rinnakkaisreaktiot yhdistettiin ja kooltaan noin 300 emäsparin (bp) PCR-tuotteet puhdistettiin käyttäen QIAquick PCR Purification -kittiä (Qiagen). Näytteet sekvensoitiin automaattisella Sanger-sekvensoinnilla käyttäen samoja alukkeita kuin PCR-reaktioissa. Saadut sekvenssit koostettiin ja muokattiin Sequencher 5.4.6. (Gene Codes Corporation) -ohjelmalla ja sekvenssejä verrattiin geenipankin sekvensseihin blastn-työkalulla (NCBI).

Valtaosa testattavista isolaateista pystyttiin tunnistamaan sukutasolle ja suuri osa jopa lajitasolle 16S rRNA -geenin sekvenssianalyysin perusteella (Taulukko 1). Tunnistetut isolaatit edustivat kymmentä eri sukua. Kuvassa 2 tunnistettuja bakteeri-isolaatteja kasvaa TSA-ravin-
toalustalla.

Taulukko 1. Valittujen vesirutosta eristettyjen isolaattien lajitunnistus sekvensoimalla.

Isolaatti	Suku	Laji
6	<i>Pantoea</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>
10	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
16	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus/S. epidermidis</i>
27	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
38	<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula</i> -suvun laji
53	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> -suvun laji
54	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> -kompleksi
84	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
86	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
95	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas extremaustralis/P. marginalis</i>
99	<i>Duganella</i>	<i>Duganella</i> -suvun laji
103	<i>Enterobacteria/Yersinia</i>	Rahnella-suvun laji / <i>Yersinia ruckeri</i>
104	<i>Duganella</i>	<i>Duganella</i> -suvun laji
134	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> -kompleksi
145	<i>Pantoea</i>	<i>Pantoea agglomerans/P. brenneri</i>
147	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> -kompleksi
161	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas putida/P. reidholzensis</i>
162	<i>Exiguobacterium</i>	<i>Exiguobacterium undae/E. artemiae</i>
164	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
168	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> group (<i>P. gessardii</i>)/ <i>P. fildesensis</i>
174	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
190	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> -suvun laji
204	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus laudensis/L. raffinolactis/L. chungangensis/</i> <i>Pseudolactococcus</i> -suvun laji
205	<i>Weissella</i>	<i>Weissella cibaria/W. confusa</i>



Kuva 2. Vesirutosta eristetty a) 168/*Pseudomonas*-, b) 145/*Pantoea*-, c) 104/*Duganella*-, d) 162/*Exiguobacterium*- ja e) 204/*Lactococcus*-isolaatti TSA-alustalla. Kuvat Lea Hiltunen, Luke.

4. Vesirutosta eristettyjen bakteerien kasvunestovaikutukset

4.1. Elintarvikepatogeenit

Vesirutosta eristettyjen mikrobi-isolaattien antimikrobisia vaikutuksia elintarvikemikrobien kasvuun testattiin ns. agardiffuusio-menetelmällä (Välimaa ym. 2020, Hiltunen & Välimaa 2022). Menetelmässä antimikrobinen vaikutus nähdään testattavaa ainetta sisältävän kiekon tai kaivon ympärille muodostuneena kirkkaana estovyöhykkeenä. Mitä suurempi estovyöhyke on, sitä voimakkaammin testattava aine estää testimikrobin kasvua. Kasvunestotesteihin testiorganismeiksi valittiin elintarvikkeiden pilaajabakteereista *Pseudomonas aeruginosa* ja elintarvikevälitteisistä taudinaiheuttajista *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* ja *Staphylococcus aureus* (Hiltunen & Välimaa 2022). Millään testatulla isolaatilla ei havaittu kasvunestovaikutusta testiorganismeihin.

4.2. Kasvitaudinaiheuttajat

Neljänkymmenen neljän vesirutosta eristetyn mikrobi-isolaatin kykyä estää kasvitaudinaiheuttajien kasvua selvitettiin agardiffuusio-menetelmällä (Pliego ym. 2011, Hiltunen & Välimaa 2022). Testipatogeeneiksi valittiin Suomessa yleisesti esiintyviä kasvitaudinaiheuttajia (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Botrytis*, *Streptomyces*) (Hiltunen & Välimaa 2022).

Suuri osa testatuista isolaateista esti kasvitaudinaiheuttajien kasvua, mutta vain muutaman isolaatin kasvunestovaikutus oli voimakasta (Hiltunen & Välimaa 2022). Alteimpia vesirutosta eristettyjen bakteerien vaikutuksille olivat hidaskasvuiset *Streptomyces*-bakteerit. Nopeakasvuisia taudinaiheuttajasieniä vastaan kasvunestoa havaittiin vähän (*Fusarium*, *Rhizoctonia*) tai ei ollenkaan (*Botrytis*). Muutamalla bakteeri-isolaatilla oli laajakirjoista vaikutusta eri taudinaiheuttajiin.

5. Vesirutosta eristettyjen bakteerien entsyymiaktiivisuus

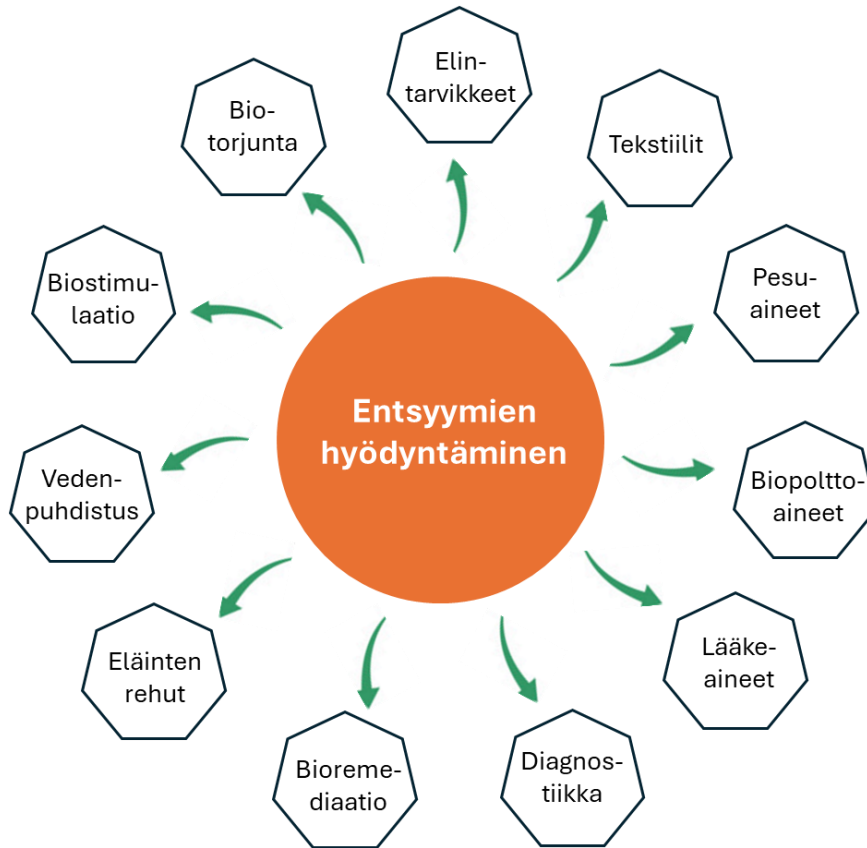
5.1. Tausta

Entsyymit ovat luonnossa, ihmisissä, eläimissä, kasveissa ja mikrobeissa esiintyviä proteiineja, jotka nopeuttavat kemiallisia reaktioita siinä itse muuttumatta. Eri entsyymit toimivat erilaisilla lämpötila-, suolapitoisuus- ja pH-alueilla (Robinson 2015). Varhaisimpia löydettyjä ja tutkittuja entsyymeitä ovat proteaasit ja lakkaasit. Eläinperäisiä entsyymejä, kuten pepsiiniä ja trypsiiniä sekä kasvipenäisiä proteaaseja, kuten papaiinia, on tunnistettu ja karakterisoitu jo 1800- ja 1900-lukujen alussa (Bond 2019). Lakkaasi eristettiin ensin japanilaisesta lakkapuusta (lacquer tree) vuonna 1883 (Keilin & Mann 1939). Entsyymien käyttö eri teollisuuden aloilla valmistusprosessien nopeuttamiseen, tuotteiden valmistamiseen tai niiden ominaisuuksien muokkaamiseen alkoi 1900-luvulla. Nykyisin on siirrytty käyttämään yhä enemmän mikrobi-peräisiä entsyymejä eläin- ja kasvipenäisten entsyymien sijaan, sillä ne voivat toimia laajalla pH- ja lämpötila-alueella ja niitä on helpompi muokata geeniteknisesti. Lisäksi mikrobien kyky tuottaa solunulkoisia entsyymejä yksinkertaistaa tuotantoprosessia helpottamalla jälkiprosessointia. Mikrobientsyymejä voidaan tuottaa kustannustehokkaasti, sillä monia mikrobeja voidaan kasvattaa edullisilla alustoilla tai sivuvirtaraaka-aineilla (Solanki ym. 2021).

Nykyisin vain noin 5 % yli 3 000 tunnistetusta entsyymistä hyödynnetään teollisesti. Kiinnostus entsyymien hyödyntämiseen laajasti eri teollisuudenaloilla (Kuva 3) kuitenkin kasvaa voimakkaasti, sillä ympäristölainsäädännön velvoitteet, energian säästämisen ja kemiallisen jätteen vähentämistavoitteet ohjaavat yrityksiä kehittämään ympäristöystävällisiä prosesseja. Entsyymien käytöllä voidaan vähentää valmistusprosessien energiankulutusta ja kemiallisen jätteen määrää, sillä entsyymien käytöstä syntyvät jätteet ovat biohajoavia ja lisäksi myrkyttömiä (Kumar ym. 2024).

Entsyymien käyttö ruoantuotannossa maailman kasvavalle väestölle lisääntyy, sillä niiden avulla ruokaa voidaan tuottaa kustannustehokkaasti ja ympäristön kannalta kestävästi. Fytasiin käyttö on vakiintunut rehuteollisuudessa fosforin hyväksikäytön tehostamiseksi ja ympäristökuormituksen vähentämiseksi. Esimerkiksi vesiviljelyssä, jolla on keskeinen rooli ruokaturvan varmistamisessa, entsyymejä käytetään hajottamaan kasvipohjaisissa kalanrehuissa olevia kalan kasvulle ja hyvinvoinnille haitallisia yhdisteitä (Yadav ym. 2025). Elintarviketeollisuudessa entsyymien avulla voidaan parantaa tuotteiden makua, rakennetta ja säilyvyyttä vaihtoehtona synteettisille kemikaaleille.

Energian hinnan nousun myötä on alettu kiinnittää entistä enemmän huomiota valmistusprosessien energiankulutukseen, joten alhaisissa lämpötiloissa toimiville entsyymeille on kysyntää. Psykrofiiliset, kylmässä toimivat entsyymit, katalysoivat reaktioita tehokkaasti matalissa lämpötiloissa. Mesofiilisiin ja termofiilisiin entsyymeihin verrattuna psykrofiiliset entsyymit katalysoivat reaktioita suhteellisen alhaisessa 20–45 °C:een lämpötilassa. Optimaalisesti nämä entsyymit toimivat 30 °C:een lämpötilassa, mutta katalyyttistä aktiivisuutta on kuitenkin vielä jonkin verran jopa 0 °C:ssa. Aktiivisuus häviää nopeasti korkeammassa lämpötiloissa: aktiivisuus heikkenee 10 minuutissa 50–60 °C:ssa tai useiden tuntien jälkeen 37 °C:ssa (Khajuria & Nonzom 2025).



Kuva 3. Entsyymien käyttökohteita. Kuva Lea Hiltunen, Luke.

Tässä työssä tutkittaviksi entsyymeiksi valittiin elintarvike- ja rehuteollisuudessa käytetyt sellulaasi, proteaasi ja fytaasi sekä lakkaasi, jota käytetään elintarviketeollisuudessa. Näiden entsyymien käytön arvioidaan edelleen kasvavan maailmanlaajuisesti (Taulukko 2).

Taulukko 2. Valittujen entsyymien nykyinen markkina-arvo ja arvon kehitys vuoteen 2035 mennessä.

Entsyymi	Markkina-arvo (tarkasteluvuonna), mrd USD	Arvioitu markkina-arvo vuonna 2035, mrd USD	Viite
Sellulaasi	7,15 (2024)	17,4	Market Research Future (MRFR) 2026
Proteaasi	3,35 (2024)	5,40	Market Research Future (MRFR) 2025
Fytaasi (eläinten rehu)	0,660 (2025)	1,26	Towards FnB 2026
Lakkaasi	0,004 (2026)	0,005	Market Reports World (MRW) 2026

5.2. Aineisto ja menetelmät

Vesiruttokasvustoista eristetyistä (Hiltunen & Välimaa 2022) kahdeksastatoista bakteeri-iso-laatista määritettiin sellulaasi-, proteaasi-, fytaasi- ja lakkaasiaktiivisuus agardiffusio-menetelmällä, jossa entsyymiaktiivisuus ilmenee testattavan kohteen ympärille muodostuneena kirkkaana vyöhykkeenä. Mitä suurempi kirkas vyöhyke on, sitä voimakkaampaa on entsyymien aktiivisuus. Lakkaasitestauksessa entsyymiaktiivisuus nähdään punaruskeana mikrobikasvustona (Mandic 2019). Määritykset toteutettiin spesifisillä kasvualustoilla (Taulukko 3).

Taulukko 3. Entsyymiaktiivisuustestauksissa käytetyt kasvualustat.

Entsyymiaktiivisuus	Kasvualusta	Viite
Sellulaasi	Karboksimetyyliselluloosa-agar (CMC) ja Gram-jodivärjäys	Männistö & Häggblom 2006; Gohel ym. 2014
Proteaasi	Maitojauheagar (MILK)	Männistö & Häggblom 2006
Fytaasi	Fytaasinseulonta agar (PSM)	Kim ym. 2002
Lakkaasi	Guaiacol agar	Mandic 2019

Testauksia varten -80 °C:een pakastetuista tryptonisoija-agarilla (TSA, Lab M Ltd, Iso-Britannia) esikasvatetuista (20 °C, 3 vrk) isolaateista ja positiivikontrollikannoista valmistettiin liemi-kasvatukset suspensoimalla maljalta 1 pesäke 10 ml:aan TSB-kasvatuslientä. Inkuboinnin (20 °C, 10 vrk) jälkeen solutiheys säädettiin pitoisuuteen noin 1×10^8 pesäkettä muodostavaa yksikköä (pmy ml^{-1})

Määrittäessä agarmaljalle pipetoitiin 5 μl jokaisen testattavan bakteeri-isolaatin bakteerisuspensiota (=näyte), sekä negatiivista ja positiivista kontrollia. Yhdelle maljalle pipetoitiin kolmen eri isolaatin bakteerisuspensiota. Näytteiden annettiin imeytyä agariin huoneenlämmössä. Maljoja inkuboitiin aerobisissa olosuhteissa 15 ja 20 °C:ssa 6 vrk, jonka jälkeen kirkkaiden vyöhykkeiden halkaisija mitattiin/kuvattiin automaattisella pesäkelaskurilla (Scan Station 4000 Interscience, Ranska). Sellulaasiaktiivisuuden mittaauksessa maljat värjättiin Gram-jodivärjäyksellä (Gohel ym. 2014) ennen mittausta. Kirkkaiden vyöhykkeiden halkaisijoiden keskiarvot ja keskihajonnat laskettiin. Tulokset ilmoitettiin suhteellisella asteikolla: Jokainen bakteeri-isolaatti testattiin kolmella rinnakkaisella maljalla kerran. Testaukset toistettiin vielä kahdesti, paitsi sellulaasiaktiivisuustestaus toistettiin kerran.

5.3. Tulokset ja pohdinta

Tulosten perusteella eri entsyymien aktiivisuudet vaihtelivat eri bakteerisukujen välillä ja jopa saman suvun eri isolaattien välillä (Taulukko 4). Lakkaasiaktiivisuuden testimenetelmä ei toiminut, eivätkä tulokset olleet siksi luotettavia, joten niitä ei raportoida tässä yhteydessä.

Voimakkaan tai kohtalaisen entsyymiaktiivisuuden perusteella bakteerisuvuittain tarkasteltuna sellulaasiaktiivisuutta osoittivat *Bacillus*-, *Duganella*- ja *Exiguobacterium* -sukujen isolaatit, proteaasiaktiivisuutta *Bacillus*-, *Exiguobacterium*-, *Pseudomonas*- ja *Lactococcus*-sukujen isolaatit sekä fytaasiaktiivisuutta *Pseudomonas*- ja *Pantoea* -sukujen isolaatit.

Vastaavasti saman suvun lajitasolla tarkasteltuna yksi *Duganella*-isolaatti osoitti proteaasiaktiivisuutta 15 °C:ssa. Molemmat *Pantoea*-isolaatit osoittivat keskenään samantasoista fytaasiaktiivisuutta 20 °C:ssa, kun taas toisen isolaatin (*145/P. agglomerans/P. brenneri*)

Taulukko 4. Suku- ja lajitasolla tunnistettujen isolaattien entsyymiaktiivisuudet 15 ja 20 °C:ssa.

Isolaatti			Sellulaasi	Proteaasi		Fytaasi	
Suku	Nro	Laji	20 °C	20 °C	15 °C	20 °C	15 °C
<i>Bacillus</i>	27	<i>B. cereus</i>	+++	+++	et	0	et
<i>Duganella</i>	99	<i>Duganella</i> -suvun laji	+++	0	++	0	et
	104	<i>Duganella</i> -suvun laji	0	0	-	0	et
<i>Exiguobacterium</i>	162	<i>E. undae</i> / <i>E. artemiae</i>	++	+++	+++	0	et
<i>Lactococcus</i>	86	<i>L. lactis</i>	0	++	et	+	et
	164	<i>L. lactis</i>	0	++	et	+	et
	174	<i>L. lactis</i>	0	++	et	+	et
	204	<i>L. laudensis</i> / <i>L. raffinolactis</i> / <i>L. chungangensis</i> / <i>Pseudolactococcus</i> -suvun laji	0	++	++	+	+
Ei määritetty	62	Ei määritetty	0	0	et	0	et
	158	Ei määritetty	0	0	et	++	et
<i>Pantoea</i>	6	<i>P. agglomerans</i>	0	0	et	++	et
	145	<i>P. agglomerans</i> / <i>P. brenneri</i>	0	0	et	++	++
<i>Pseudomonas</i>	53	<i>Pseudomonas</i> -suvun laji	0	+++	+++	+	-
	190	<i>Pseudomonas</i> -suvun laji	0	+++	+++	+++	++
	161	<i>P. putida</i> / <i>P. reidholzensis</i>	0	0	et	++	+
	168	<i>P. fluorescens</i> group (<i>P. gessardii</i>) / <i>P. fildesensis</i>	+	+++	+++	+	+
	95	<i>P. extremaustralis</i> / <i>P. marginalis</i>	0	+++	+++	+++	++
<i>Weissella</i>	205	<i>W. soli</i> / <i>W. cibaria</i> / <i>W. confusa</i>	0	0	0	0	0

Entsyymiaktiivisuus: 0, ei entsyymiaktiivisuutta; + heikko entsyymiaktiivisuus (vyöhykkeen halkaisija 7-18 mm); ++ kohtalainen entsyymiaktiivisuus (vyöhykkeen halkaisija 19-29 mm); +++ voimakas entsyymiaktiivisuus (vyöhykkeen halkaisija > 30 mm); et, ei testattu

fytaasiaktiivisuus oli samantasoista molemmissa testatuissa lämpötiloissa. *Lactococcus*-suvun kaikki-isolaatit osoittivat keskenään samantasoista proteaasiaktiivisuutta 20 °C:ssa, mutta vain yksi isolaatti (204/*L. laudensis*/*L. raffinolactis*/*L. chungangensis*/*Pseudolactococcus*), osoitti samantasoista proteaasiaktiivisuutta sekä 15 °C:ssa että 20 °C:ssa. Kaksi *Pseudomonas*-isolaattia (95/*P. extremaustralis*/*P. marginalis* ja 190/*Pseudomonas*) osoittivat keskenään samantasoista proteaasi- ja fytaasiaktiivisuutta. Kaksi muuta *Pseudomonas*-isolaattia (53/*Pseudomonas* ja 168/*P. fluorescens*/*P. gessardii*/*P. fildesensis*) osoittivat samanlaista proteaasiaktiivisuutta. Proteaasiaktiivisuudet olivat samantasoisia molemmissa testatuissa lämpötiloissa, kun taas fytaasiaktiivisuudet olivat matalammat 15 °C:ssa. Yksi *Pseudomonas*-isolaateista (161/*P. putida*/*P. reidholzensis*) ja tunnistamattomasta isolaatista (158) osoitti ainoastaan fytaasiaktiivisuutta.

Entsyymiaktiivisuustulosten perusteella kiinnostava havainto on se, että tietyt *Exiguobacterium*-, *Lactococcus*- ja *Pseudomonas*-sukujen isolaatit osoittivat voimakasta tai kohtalaista proteaasiaktiivisuutta sekä *Pantoea*-, *Pseudomonas*- ja *Lactococcus* -sukujen isolaatit voimakasta tai kohtalaista fytaasiaktiivisuutta sekä 15 °C:ssa että 20 °C:ssa. Lisäksi yksi *Duganella*-suvun isolaateista osoitti kohtalaista proteaasiaktiivisuutta 15 °C:ssa, mutta sitä ei havaittu 20 °C:ssa. Tämä antaa viitteitä siitä, että kyseiset isolaatit voivat olla psykrotrofisia bakteereita

(Cavicchioli ym. 2002) ja niiden tuottamat entsyymit psykrotsyymejä, kylmässä toimivia entsyymejä, jotka katalysoivat reaktioita tehokkaasti entsyymeille suhteellisen alhaisissa 20–45 °C:een lämpötiloissa (Khajuria & Nonzom 2025).

Jatkotutkimuksia kuitenkin tarvitaan, jotta voidaan arvioida testattujen bakteeri-isolaattien tuottamien entsyymien soveltuvuus ruoantuotannossa elintarvikkeissa tai tuotantoeläinten rehuissa. Jatkotutkimuksissa tulisi keskittyä näiden mikrobien entsyymien puhdistamiseen ja niiden ominaisuuksien karakterisointiin, kuten toimintakykyyn eri lämpötila-, suolapitoisuus- ja pH-alueilla, mihin tässä hankkeessa ei ollut mahdollisuutta.

6. Vesirutosta eristettyjen bakteerien fosfaatin liuotuskyky

6.1. Tausta

Fosfori (P) on yksi tärkeimmistä välttämättömistä ravintoaineista, jota kasvit tarvitsevat kasvuun, kehitykseen ja sadon tuottoon. Fosfori on sitoutuneena maaperään epäorgaanisena fosfaattina, jota kasvit eivät pysty käyttämään (Paz-Ares ym. 2021). Joillakin kasvien kasvua edistävillä bakteereilla on epäorgaanisen fosfaatin liuotuskyky, jonka avulla kasvit kykenevät ottamaan fosforin käyttöönsä (Lorenzi ym. 2022). Fosfaatin liuotuskykyä on havaittu esimerkiksi *Bacillus*-, *Pseudomonas*, *Pantoea* ja *Exiguobacterium*-sekä *Duganella* -suvun kannoilla (Ghyselinck ym. 2013, Kasana & Pandey 2018, Rat ym. 2021).

Fosforin saatavuus kasvintuotannossa on rajallista maailmanlaajuisesti (Paz-Ares ym. 2021). Yksi keino lisätä fosforin saatavuutta viljelykasveille, olisi käyttää viljelyssä bakteereita, jotka kykenevät liuottamaan epäorgaanista fosfaattia. Kaupallisesti on jo saatavilla esimerkiksi joihinkin *Bacillus*- ja *Pseudomonas*-lajeihin perustuvia valmisteita (Pirttilä ym. 2021).

6.2. Aineisto ja menetelmät

Kahdeksantoista vesiruttokasvustoista eristetyn (Hiltunen & Välimaa 2022) bakteeri-isolaatin fosfaatin liuotuskykyä testattiin agardiffuusio-menetelmällä fosfaattiagarilla NBRIP (National Botanical Research Institute's phosphate growth medium) (Nautiyal 1999).

6.3. Tulokset ja pohdinta

Tulosten mukaan testatut isolaatit eivät osoittaneet fosfaatin liuotuskykyä tai se oli heikkoa, kuten *Lactococcus*-, *Pantoea*- ja *Pseudomonas*-sukuihin kuuluvilla isolaateilla (Taulukko 5). Kiinnostava havainto on kuitenkin se, että joillakin *Pantoea*- ja *Pseudomonas*-isolaateilla (145/*P. agglomerans*, *P. brenneri*; 53/*Pseudomonas* ja 168/*P. fluorescens*/*P. gessardii*/*P. fil-desensis*; 95/*P. extremaustralis* / *P. marginalis*; 161/ *P. putida* / *P. reidholzensis*) fosfaatin liuotuskykyä esiintyi sekä 15 °C:ssa että 20 °C:ssa. Tämä seikka voi viitata siihen, että kyseiset isolaatit ovat kylmässä viihtyviä bakteereita (psykrotrofeja), jolloin niiden entsyymit toimivat tehokkaasti suhteellisen matalissa lämpötiloissa.

Taulukko 5. Isolaattien fosfaatin liuotuskyky 15 ja 20 °C:ssa.

Isolaatti			Fosfaatin liuotuskyky	
Suku	Nro	Laji	20 °C	15 °C
<i>Bacillus</i>	27	<i>B. cereus</i>	0	et
<i>Duganella</i>	99	<i>Duganella</i> -suvun laji	0	et
	104	<i>Duganella</i> -suvun laji	0	et
<i>Exiguobacterium</i>	162	<i>E. undae</i> , <i>E. artemiae</i>	0	et
<i>Lactococcus</i>	86	<i>L. lactis</i>	+	et
	164	<i>L. lactis</i>	+	et
	174	<i>L. lactis</i>	+	et
	204	<i>L. laudensis</i> / <i>L. raffinolactis</i> / <i>L. chun-gangensis</i> / <i>Pseudolactococcus</i> -suvun laji	0	et
Ei määritetty	62	Ei määritetty	0	et
	158	Ei määritetty	+	et
<i>Pantoea</i>	6	<i>P. agglomerans</i>	+	et
	145	<i>P. agglomerans</i> , <i>P. brenneri</i>	+	+
<i>Pseudomonas</i>	53	<i>Pseudomonas</i> -suvun laji	+	et
	190	<i>Pseudomonas</i> -suvun laji	+	et
	161	<i>P. putida</i> / <i>P. reidholzensis</i>	+	+
	168	<i>P. fluorescens</i> group (<i>P. gessardii</i>) / <i>P. fildesensis</i>	+	+
	95	<i>P. extremaustralis</i> / <i>P. marginalis</i>	+	+
<i>Weissella</i>	205	<i>W. soli</i> / <i>W. cibaria</i> / <i>W. confusa</i>	0	0

Fosfaatin liuotuskyky: 0, ei havaittu; + heikko (vyöhykkeen halkaisija 7–18 mm); et, ei testattu

7. Vesirutosta eristettyjen bakteerien biotorjunta- ja biostimulanttivaikutukset

7.1. Tausta

Kasvintuhoojat vähentävät viljelykasvien satoa ja laatua aiheuttaen merkittäviä taloudellisia tappioita ja heikentäen ruokaturvallisuutta niin kansallisella kuin maailmanlaajuisella tasolla. Satotappiot voivat olla jopa 30 % viljelykasvista riippuen (Savary ym. 2019). Kasvintuhoojien torjunta perustuu suurelta osin kemiallisiin torjunta-aineisiin. Torjunta-aineet ovat riski ympäristölle ja ihmisten terveydelle, joten niiden käyttöä pyritään vähentämään. Esimerkiksi Euroopassa tavoitteena on vähentää kemiallisten torjunta-aineiden käyttöä ja riskejä 50 prosentilla vuoteen 2030 mennessä (Direktiivi 2009/128/EY). Korvaajiksi tarvitaan vaihtoehtoisia, ei-kemiallisia menetelmiä, joita voisivat olla esimerkiksi mikrobipohjaiset tuotteet.

Monilla bakteerisuvuilla on havaittu taudinestovaikutusta sieni- ja bakteeripatogeeniä vastaan. Vaikutus voi perustua erilaisiin mekanismeihin, kuten isäntäkasvin vastustuskyvyn tehostamiseen patogeenien aiheuttamia infektioita vastaan, kilpailuun ravinteista ja tilasta tai suoraan vuorovaikutukseen taudinaiheuttajan kanssa esimerkiksi hyperparasitismiin (Ioinen loisii toisessa loisessa) tai antibioosin kautta (eliön tuottama aine estää toisen eliön kasvua) (Köhl ym. 2019, Bonaterra ym. 2022, Collinge ym. 2022). Bakteerit voivat edistää myös kasvien ravinteiden ja veden ottoa tai kasvua stimuloivien yhdisteiden tuottoa, ja siten parantaa kasvien kasvua ja terveyttä (Bonaterra ym. 2022). Eniten tutkittuja ovat *Pseudomonas*-, *Bacillus*-, *Streptomyces*-, *Lactobacillus*-, *Pantoea*- ja *Weissella*- sukuihin kuuluvat bakteerit, joita on jo rekisteröity kaupallisiksi tuotteiksi (Bonaterra ym. 2022 sekä siinä mainitut lähteet).

Mikrobien taudinestokykyä voidaan mitata erilaisilla menetelmillä. Ravintoalustoilla tehtävät maljatestatukset perustuvat antimikrobisten yhdisteiden tuotantoon laboratorio-olosuhteissa, mutta ne eivät huomioi isäntäkasvin roolia eikä ympäristötekijöiden vaikutuksia. Kasveilla tehtävien biotestien etuna on se, että niissä voidaan saada esiin useita vaikutusmekanismeja ja niiden yhdistelmiä. (Pliego ym. 2011, Köhl ym. 2019, Raymaekers ym. 2020).

Tässä työssä selvitettiin vesirutosta eristettyjen, maljakokeissa (*in vitro*) lupaavia tuloksia antaneiden bakteeri-isolaattien taudinestovaikutuksia kontrolloiduissa olosuhteissa (*in vivo*) kahdessa isäntäkasvi-taudinaiheuttaja-systeemissä. Lisäksi selvitettiin isolaattien vaikutuksia kasvien alkukehitykseen.

7.2. Aineisto ja menetelmät

Kymmenen maljakokeissa lupaavia tuloksia antaneen bakteeri-isolaatin taudinestovaikutuksia testattiin kasvatuskaappikokeissa. Taudinaiheuttajiksi valittiin siemenlevintäinen *Fusarium*-sieni, joka aiheuttaa ohralla tyvitautia ja maalevintäinen *Plasmodiophora brassicae* -mikrobi, joka aiheuttaa ristikkukasilla kasvilajeilla möhöjuuritautia. Molemmissa kokeissa kasvualustana käytettiin perunan viljelykierrossa olevalta peltolohkolta kerättyä peltomaata (karkea hietä, orgaanisen aineksen pitoisuus 2,2 %, pH 6,1), jota punnittiin 250 g / ruukku (8 cm × 8 cm × 8 cm). Ruukut asetettiin polyeteenipusseihin veden virtauksen estämiseksi ruukusta toiseen, ja ne jaettiin viidelle alustalle. Kylvön jälkeen ruukut peitettiin polyeteenikalvolla taimettumiseen asti. Taimettumisen jälkeen kasveja kasteltiin pohjan kautta kahdesti viikossa

vedellä ja kerran viikossa 0,03 % (w/v) nestemäisellä lannoitteella (Green Care, Puutarhan kesä™ NPK 13-7-20 + mikroravinteet, Yara Vlaardingen, Alankomaat). Kokeet tehtiin kasvatuskaapeissa (Fitotron, Weiss Technik, Saksa) kontrolloiduissa olosuhteissa (päivänpituus 16 h, ilman suhteellinen kosteus 60 %).

Kasvit käsiteltiin vesirutosta eristetyillä bakteeri-isolaateilla 5 ja 12 vrk kylvön jälkeen. Käsitteilyä varten isolaatteja kasvatettiin TSB:ssä 20 °C:ssa 4 vrk. Bakteerisuspensiot laimennettiin OD600nm-arvojen perusteella ja pyrittiin noin 10^6 pmy ml⁻¹ pitoisuuksiin. Maljaukset TSA:lle kuitenkin paljastivat, että kasvien käsittelyyn käytettyjen suspensioiden todelliset pitoisuudet olivat laskennallisia pitoisuuksia korkeampia (3×10^6 – 4×10^7 pmy ml⁻¹) lukuun ottamatta yhtä heikosti kasvavaa isolaattia. Jokainen ruukku käsiteltiin pipetoimalla taimien tyvelle TSB:hen laimennettua bakteerisuspensiota (4 ml/ruukku). Käsittelemättömille kontrollitaimille pipetoiitiin puhdasta TSB:tä. Jokaista testi-isolaatti-isäntäkasvi-kombinaatiota kohden oli viisi rinnakkaista ruukku.

7.2.1. Vaikutukset kasvitauteihin

Ohran tyvitauti

Kokeissa oli kaksi *Fusarium*-sienen tartuttamaa siemenestä: RGB Planet 2023 -erässä oli 17 % ja RGB Planet 2024 -erässä 100 % luontainen tartunta. Siemenet kylvettiin ruukkuihin (16 kpl / ruukku) 2 cm syvyyteen. Kylvösten pinta pidettiin kosteana ruiskuttamalla vedellä taimettumisen aikana. Kasvatuslämpötila oli 15 °C päivällä / 10 °C yöllä ensimmäiset kaksi viikkoa, 18 °C päivällä / 13 °C yöllä seuraavat kaksi viikkoa ja 20 °C päivällä / 15 °C viimeiset viikot

Kasvien taimettuminen havainnoitiin 5, 8 ja 11 vrk kylvön jälkeen. Viiden ja puolen viikon kuluttua kylvöstä kasveista määritettiin tyvitautin oireiden esiintyminen ja ankaruus sekä kasvien maanpäällisistä osien tuore- ja kuivapainot.

Kiinankaalin möhöjuuri

Kiinankaalin lajikkeen Granaat siemeniä kylvettiin ruukkuihin (6 kpl / ruukku) 1 cm syvyyteen. Kasvualustat tartutettiin peittämällä kylvökset ilmakeivillä, möhöjuurimikrobin (*P. brassicae*) saastuttamalla peltomaalla (11,8 g ilmakeivettä maata / 250 g kasvualustaa). Käsittelemättömän kontrollin siemenet peitettiin kasvualustana käytetyllä peltomaalla. Ruukut kasteltiin kenttäkapasiteettiin vesijohtovedellä. Ruukkuja pidettiin ensimmäiset kaksi viikkoa 18 °C:ssa päivällä / 15 °C:ssa yöllä ja sen jälkeen 20 °C:ssa päivällä / 18 °C:ssa yöllä.

Kasvien taimettuminen havainnoitiin 5, 8, 11 ja 15 vrk kylvön jälkeen. Kuuden ja puolen viikon kuluttua kylvöstä kasvien juurista tarkastettiin möhöjuurikasvainten esiintyminen ja määrä sekä mitattiin kasvien maanpäällisten osien tuore- ja kuivapainot.

7.2.2. Vaikutukset kasvien kasvuun

Vesirutosta eristettyjen bakteeri-isolaattien vaikutuksia siementen itävyyteen selvitettiin laboratoriotestauksilla ja kasvien alkukehitykseen kontrolloidussa olosuhteissa tehdyillä kokeilla. Testikasveina olivat ohra (*Hordeum vulgare*, lajike Aukusti) ja retiisi (*Raphanus sativus*, lajike National 2).

Siementen itäminen

Kokeet toteutettiin siten, että desinfioituja siemeniä idätettiin suodatinpapereilla, jotka oli kostutettu vesirutosta eristetyillä bakteeri-isolaateilla. Siemenet desinfioitiin 0,5 % natriumhypokloriittiliuoksella 1 min (ohra) tai 2 min (retiisi) ajan, huuhdeltiin kolme kertaa steriilillä tislattulla vedellä (SDW) ja kuivattiin laminaarissa. Bakteeri-isolaatit kasvatettiin NB-ravinneliuoksessa (NB, Merck, Saksa) 20 °C:ssa 2 vrk, minkä jälkeen liuokset sentrifugoitiin (5 000 g, 5 min, 4 °C). Pelletit suspensoitiin 0,9 % NaCl:aan (OD600 nm -arvo 0,5–0,6) ja laimennettiin edelleen 100-kertaisesti. Siemenet (ohra 9, retiisi 16) asetettiin petrimaljalla olevalle suodatinpaperille, joka oli kostutettu bakteerisuspensiolla (1 ml, 10^6 pmy ml⁻¹) ja SDW:llä (1 ml). Puhdasta NB:tä ja SDW:tä pipetoitiin käsittelemättömille kontrollimaljoille. Kokeissa oli mukana 26 isolaattia ja jokaista isolaattia kohden oli kolme rinnakkaista maljaa. Siemeniä idätettiin 20 °C:ssa ja itäneiden siementen lukumäärä laskettiin 7 vrk kokeen aloittamisesta. Testaus tehtiin kahdeksassa erässä, joista jokainen sisälsi käsittelemättömän kontrollin. Tulokset laskettiin itäneiden määränä suhteessa kontrolliin.

Alkukehitys

Kokeessa testattiin vesirutosta eristettyjen bakteeri-isolaattien siemenpeittauskäsittelyjen vaikutuksia kasvien alkukehitykseen. Testausta varten 12 valittua bakteeri-isolaattia kasvatettiin TSB:ssä 20°C:ssa 2 vrk, minkä jälkeen liemi sentrifugoitiin (5 000 g, 5 min, 4 °C) ja pelletit suspensoitiin 0,9 % NaCl:aan (OD600 nm -arvo 0,5–0,6). Siemeniä inkuboitiin bakteeriliuoksissa (5×10^6 pmy ml⁻¹ ohralle, 3×10^5 pmy ml⁻¹ retiisille) 30 min ja kuivattiin suodatinpaperilla. Mikrobeilla käsittelemättömän kontrollin siemeniä inkuboitiin puhtaassa TSB:ssä.

Bakteeriliuoksilla käsitellyt siemenet (ohra 16 siementä / ruukku, retiisi 4 / ruukku), kylvettiin ruukkuihin (8 cm x 8 cm x 8 cm), joissa kussakin oli 250 g kasvualustaa. Kasvualustana käytettiin perunan viljelykierrossa olevalta peltolohkolta kerättyä peltomaata (karkea hieta, orgaanisen aineksen pitoisuus 1,7 %, pH 6), joka oli peruslannoitettu Yara Mila Y3 (NPK 23-3-8, Yara Finland) -lannoitteella (ohra: 348 kg ha⁻¹; retiisi: 478 kg ha⁻¹). Jokaisesta isolaatti-kasvilajikombinaatiosta oli neljä rinnakkaista ruukkuja. Ruukut asetettiin muovipusseihin veden pääsyn estämiseksi ruukusta toiseen, ja ruukut jaettiin neljälle alustalle. Ruukut peitettiin muovilla taimettumiseen asti ja kasteltiin suihkuttamalla pintamaa kerran taimettumisen aikana. Taimettumisen jälkeen kasveja kasteltiin kolme kertaa viikossa vedellä ja kaksi kertaa kasvun aikana 0,06 % (w/v) nestemäisellä lannoitteella (Green Care). Kokeet tehtiin kasvatuskaapeissa (Fitotron, Weiss Technik, Saksa) kontrolloiduissa oloissa (päivänpituus 16 h, päivälämpötila 18 °C, yölämpötila 15 °C, ilman suhteellinen kosteus 60 %). Taimettuneet kasvit laskettiin 7 ja 14 vrk kuluttua kylvöstä. Viiden viikon kuluttua kylvöstä kasvien maanpäällisistä osista määritettiin tuore- ja kuivapainot.

7.3. Tulokset ja pohdinta

Fusarium-sienen aiheuttamat tyvioireet ohralla olivat pääasiassa lieviä (Kuva 4). Lievemmin saastuneen siemenen käsitlemättömistä verrokkitaimista sai oireita 16 % ja ankarammin saastuneen siemenen verrokkitaimista 12 %. Neljä isolaattia (104/*Duganella*, 107/tunnistamaton), 147/*Enterobacter*, 161/*Pseudomonas*) hillitsi oireiden kehittymistä lievemmin saastuneen siemenen taimissa (Taulukko 6). Jatkotutkimusten kannalta nämä isolaatit ovat mielenkiintoisia, sillä ne hillitsivät *Fusarium*-sienten kasvua myös maljatestauksissa, joskin

vaikutus oli lievää. Taudinestovaikutusta ei ollut havaittavissa ankarammin saastuneen siemenen taimissa.

Möhöjuurioireiden kehitymisessä oli suuria eroja ruukkujen välillä, mikä vaikeuttaa tulosten tulkintaa. Käsittelemättömän kontrollin kasveista 20 %:iin kehittyi möhöjuurikasvaimia (Kuva 4). Yksi isolaatti (95/*Pseudomonas*) esti kokonaan möhöjuurikasvainten muodostumisen (Taulukko 6), mikä puoltaa kyseisen isolaatin jatkotutkimuksia. Yksi isolaateista (147/*Enterobacter*) puolestaan lisäsi möhöjuuristen kasvien määrää.

Isolaattien taudinestovaikutuksia ei pystytty linkittämään entsyymiaktiivisuuksiin.



Kuva 4. Vasemmalla *Fusarium*-sienen aiheuttamia tyvioireita ohralla (lajike RGB Planet). Ankarat oireet on merkitty punaisella ja lievät oireet oranssilla nuolella. Oikealla möhöjuurikasvaimia kiinankaalin (lajike Granaat) juurissa. Kuvat Lea Hiltunen, Luke.

Maljakokeissa vesirutosta eristetyt isolaatit näyttivät estävän parhaiten hidaskasvuisten perunarupea aiheuttavien *Streptomyces*-bakteerien kasvua. Isolaattien tehon selvittämistä ruukkukokeissa käyttäen perunaa isäntäkasvina ei kuitenkaan ollut mahdollista toteuttaa kasvatuskaapissa suuren tilantarpeen vuoksi.

Yhteenvedon voidaan todeta, että maljatestauksista saadut tulokset olivat lupaavampia kuin ruukkukokeista saadut tulokset. Tämä johtunee siitä, että eri testimenetelmät mittaavat eri asioita ja voivat siten antaa erilaisen lopputuloksen. Maljatestaukset perustuvat antimikrobisten yhdisteiden tuotantoon *in vitro*-olosuhteissa (Pliego ym. 2011, Raymaekers ym. 2020). Antimikrobisten yhdisteiden tuoton oletetaan kuitenkin olevan vähäisempää luonnon olosuhteissa (*in vivo*) (Köhl ym. 2019), joten tämän kasvunestomekanismin teho ei välttämättä tule esille ruukkutestauksissa.

Biologinen torjunta on monimutkainen systeemi, joka käsittää isäntäkasvin, taudinaiheuttajan, torjuntaeliön ja ympäristötekijöiden väliset vuorovaikutukset (Bonaterra ym. 2022). Siten myös taudineston testausvaiheessa on monia tekijöitä, jotka voivat vaikuttaa testauksen lopputulokseen. Näitä ovat muun muassa potentiaalisen torjuntaeliön käyttömäärä, -aika ja -tapa,

taudinaiheuttaja ja tautipaineen suuruus, isäntäkasvilaji ja -lajike sekä ympäristöolosuhteet (Montesinos ym. 2009).

Taulukko 6. Kymmenen vesirutosta eristetyn bakteeri-isolaatin kasvipatogeenien kasvunesto-vaikutus maljakokeissa ja taudinestovaikutus ruukkukokeissa.

Isolaatti	Bakteerisuku	TAUDINESTO (<i>in vivo</i>) ¹⁾			KASVUNESTO (<i>in vitro</i>) ²⁾				
		Ohra		Kiinankaali	Taudinaiheuttaja ³⁾				
		Fusarium-siementartunta		Möhöjuuri-maartartunta					
		17 %	100 %		Se	St	Rs	FOX	FAV
54	<i>Enterobacter</i>	0	0	0	+++	++/+++	++	+	+
95	<i>Pseudomonas</i>	0	0	(+)	++	+	+	+	+
104	<i>Duganella</i>	(+)	0	0	0	0	++	+	++
107	Ei määritetty	(+)	0	0	+++	++	+	+	++
134	<i>Enterobacter</i>	0	0	0	+++	++/+++	+	+	+
145	<i>Pantoea</i>	0	0	0	++	+	+++	+	+
147	<i>Enterobacter</i>	(+)	0	-	+++	++	++	+	+
161	<i>Pseudomonas</i>	(+)	0	0	++/+++	+	+	+	0
164	<i>Lactococcus</i>	0	0	0	++/+++	++	+	0	0
168	<i>Pseudomonas</i>	0	0	0	et	et	et	et	et

¹⁾ Taudinesto ruukkukokeissa: 0, ei vaikutusta; (+), lievä taudinesto; -, taudinlisäys

²⁾ Taudinaiheuttajan kasvunesto maljakokeissa: 0, ei estovaikutusta; + lievä estovaikutus (estovyöhykkeen leveys ≤10 mm); ++ keskikertainen estovaikutus (estovyöhykkeen leveys >10-≤20 mm); +++ voimakas estovaikutus (estovyöhykkeen leveys > 20 mm); et, ei testattu

³⁾ Taudinaiheuttajat (Hiltunen & Välimaa 2022): Se, *Streptomyces europaeiscabiei*; St, *S. turgidiscabies*; Rs, *Rhizoctonia solani*; FOX, *Fusarium oxysporum*; FAV, *F. avenaceum*

Vesirutosta eristetyillä bakteeri-isolaateilla ei havaittu kasvua edistäviä vaikutuksia kasvatuskaappikokeissa. Sen sijaan jotkut isolaatit heikensivät kasvien kehitystä. Yksi testatuista isolaateista (205/*Weissella*) vähensi sekä retiisiin että ohran kuivapainoa alkukehityksen aikana ja yksi isolaatti (158/tunnistamaton) heikensi retiisiin itämistä (Taulukko 6). Saman suuntaisia havaintoja tehtiin myös kasvinestotestauksien yhteydessä: kaksi isolaattia (164/*Lactococcus*, 168/*Pseudomonas*) vähensivät selvästi ohran kuivapainoa. Näiden mikrobien kohdalla heräkin kysymys, toimisivatko ne rikkakasvien torjunnassa. Aiemmin muun muassa *Streptomyces*-bakteereilla ja *Pseudomonas fluorescens* -bakteerikannoilla on havaittu kasvien kasvua rajoittavia ominaisuuksia, joita on hyödynnetty bioherbisideissä (King & Lawrence 2001, Neal 2014, Tekielä 2017, Custer ym. 2024, Nayak ym. 2024).

Samoin kuin biotorjunnan, myös biostimulanttien toimivuuteen vaikuttavat monet tekijät kuten käsittelytapa, -ajankohta ja -kertojen määrä, ympäristö- ja maaperäolosuhteet sekä isäntäkasvi (Neumann ym. 2024, López-Serrano ym. 2026). Yhtä tärkeää on mikrobiostimulanttien alkuperä ja yhteensopivuus isäntäkasvin kanssa. Monet tutkimukset osoittavat, että samanlaisesta ekosysteemistä peräisin olevat tai isäntäkasvin kanssa yhdessä kehittyneet mikrobikannat antavat yleensä parhaan lopputuloksen (Jiang ym. 2022, Shao ym. 2023, López-Serrano ym. 2026).

8. Kiinnostavimmat bakteerit jatkokehityksen kannalta

Tässä työssä löydettiin sellaisia sellulaasia, proteaasia ja fytaasia tuottavia bakteeri-isolaatteja, jotka kuuluvat Suomessa melko tuntemattomiin bakteerisukuihin, *Duganella*, *Exiguobacterium* ja *Pantoea* (Kuva 4). Näiden isolaattien hyödyntämismahdollisuuksien selvittämiseksi jatkotutkimukset ovat tarpeen. Seuraavassa on esitetty lyhyt kooste kyseisistä bakteerisuvuista.

8.1. *Duganella*

Duganella-suku ja sen ensimmäinen, jätevedestä eristetty laji *Duganella zoogloeoides* tunnistettiin 1997 (Hiraishi ym. 1997). Sitten *Duganella*-lajeja on eristetty erilaisista ympäristöistä, kuten metsämaasta (Li ym. 2004), maissipelloilta (Raths ym. 2019), subtrooppisesta puurosta (Lu ym. 2020) ja kukista (Heo ym. 2022) sekä viljelykasvien juuristoista (Kishiro ym. 2025). *Duganella*-bakteerit ovat tyypillisesti Gram-negatiivisia, liikkuvia, aerobisia ja sauvan muotoisia mesofiilisiä bakteereita, mutta jotkut kannat voivat kasvaa niinkin alhaisessa lämpötilassa kuin 4 °C (Kishiro ym. 2025). Jotkut lajit tuottavat violettia violacein-väriainetta, jolla on bakteereiden, kuten *S. aureus*, ja homeiden, kuten *Fusarium graminearum*, (Choi ym. 2015, Haack ym. 2016) sekä virusten ja loisten kasvua estäviä ominaisuuksia ja sytotoksisuutta myös erilaisia kasvainsolulinjoja vastaan (Zhang ym. 2025). *Duganella*-suvun lajien ei ole todettu olevan ihmisille patogeenisia (Haack ym. 2016).

Useat *Duganella*-kannat tuottavat erilaisia entsyymejä ja niillä on havaittu muun muassa amylolyyttistä, lipolyyttistä, kitinolyyttistä, proteolyyttistä ja lipolyyttistä aktiivisuutta (Aranda ym. 2011, Haack ym. 2016). Sellolyyttistä aktiivisuutta on raportoitu Suomen Lapista eristetyistä *Duganella*-isolaateista (Männistö & Hägglom 2006).

Monilla *Duganella*-sukuun kuuluvilla bakteerikannoilla on raportoitu monenlaisia kasvien kasvua edistäviä ominaisuuksia (Rat ym. 2021). Ne pystyvät muun muassa liuottamaan fosforia, kaliumia ja sinkkiä maaperässä (Verma ym. 2014).

8.2. *Exiguobacterium*

Exiguobacterium-suku on monipuolinen ryhmä värillisiä, Gram-positiivisia, fakultatiivisesti anaerobisia, itiöitä muodostamattomia bakteereita. Suvun ja lajin ensimmäinen jäsen *Exiguobacterium aurantiacum*, alkalofiilinen bakteeri, eristettiin perunankäsittelyn jätevesistä (Collins ym. 1983). *Exiguobacterium*-suvun lajeja on eristetty monenlaisista ympäristöistä, kuten maaperästä, suolaisista sedimenteistä, merivedestä, ikiroudasta, jäätiköistä, teollisuuden jätevesistä ja kuumista lähteistä (Kasana & Pandey 2018). Hiljattain niitä on löydetty myös perinteisesti fermentoiduista elintarvikkeista (Wu ym. 2022, Kothe ym. 2024, Liu ym. 2024, Liang ym. 2025, Sharma ym. 2025). Niille on tunnusomaista kyky kasvaa hyvin monenlaisissa ympäristöolosuhteissa: -12–55 °C lämpötiloissa, pH-alueella 5–12 ja suolattomissa tai hyvin suolaisissa 0–19 % (NaCl, m/v) olosuhteissa (Rodrigues ym. 2008, Vishnivetskaya ym. 2009, Meng ym. 2020). Lisäksi jotkut *Exiguobacterium* -kannat sietävät myös raskasmetalleja (Castro-Severyn ym. 2017) sekä kuivumista (xerotolerant) (López ym. 2021). *Exiguobacterium*-suvun lajien on todettu vain harvoin aiheuttaneen sairauksia ihmisille (Chen ym. 2017) tai eläimille (Gao ym. 2025).

Exiguobacterium -suvun kannat tuottavat erilaisia hydrolyyttisiä entsyymeitä, kuten sellulaasia, pektinaasia, mannanaasia, ksylanaasia, tannaasia, proteaasia, lipaasia, amylaasia ja pullulanaasia, joita voidaan käyttää eri teollisuudenaloilla, kuten pesuaine-, elintarvike-, rehu-, paperi-, tekstiili-, nahka- ja lääketieteellisyydessä, bioremediaatiossa, bioteknologiassa ja maataloudessa (Kasana & Pandey 2018). Lisäksi *Exiguobacterium* -sukuun kuuluvilla kannoilla on raportoitu monenlaisia kasvien kasvua edistäviä ominaisuuksia, kuten indolietikkahapon tuotto, siderofori- ja syaanivetytuotanto, fosfaatin liuotuskyky ja antagonistiset ominaisuudet (Kasana & Pandey 2018).

Exiguobacterium -suvun bakteereita on raportoitu esiintyvän joissakin aasialaisissa perinteisesti fermentoiduissa kasviperäisissä (Jung ym. 2018, Lin ym. 2022, Wu ym. 2022, Kothe ym. 2024) ja kalaperäisissä (Liu ym. 2024, Liang 2025, Sharma ym. 2025, Utama ym. 2025) elintarvikkeissa, joissa niiden on todettu vaikuttavan aromiyhdisteiden muodostumiseen ja siten tuotteiden makuun.

8.3. *Pantoea*

Pantoea on määritelty omaksi suvukseen noin 35 vuotta sitten (Gavini ym. 1989). *Pantoea*-suvun lajit muodostavat keltaisia pesäkkeitä ja ovat sauvanmuotoisia, Gram-negatiivisia, itiötömiä, ominaisuuksiltaan erilaisia bakteereja, joita on eristetty vesi- ja maaympäristöistä, kasveista, hyönteisistä ja eläimistä (Walterson & Stavrínides 2015).

Pantoea-suvun bakteerit ovat vuorovaikutuksessa useiden kasvien kanssa joko haitallisina tai hyödyllisinä bakteereina kannasta ja isäntäkasvista riippuen (Duchateau ym. 2024). Jotkut *P. agglomerans*-kannat aiheuttavat monenlaisia kasvitauteja esimerkiksi vehnässä, riisissä, sokeriru'ossa ja puuvillassa, kun taas toisen *P. agglomerans*-lajin kannan on raportoitu estävän *F. graminearum*-sienen kasvua, joka tuottaa hometoksiineja ja aiheuttaa sato- ja laatutappioita esimerkiksi viljoissa (Dutkiewicz ym. 2016). Joistakin *Pantoea*-kannoista on jo kehitetty kaupallisia biologisia torjunta-aineita (Walterson & Stavrínides, 2015, Duchateau ym. 2024). Osa *Pantoea*-kannoista pystyy hajottamaan rikkakasvien torjunta-aineita tuottamatta myrkyllisiä sivutuotteita ja niitä voidaan siten käyttää biopuhdistukseen eli bioremediaatioon (Walterson & Stavrínides 2015).

Useiden *Pantoea*-suvun kantojen katsotaan olevan kasvien kasvua edistäviä bakteereita, jotka voivat edistää kasvien kasvua monenlaisin mekanismein, kuten kasvihormonien tuotanto, ilman typen sitominen, ammoniakkin ja fosfaatin liuottaminen sekä raudan sitominen bakteerien sideroforeilla. Lisäksi bakteerit voivat estää kasvien patogeenisten sienien ja bakteerien kasvua tuottamiensa antibioottien, soluseinää hajottavien entsyymeiden, sideroforien, vetycyanidin ja kilpailun sekä indusoidun systeemisen resistenssin kautta (Lorenzi ym. 2022). Joidenkin *Pantoea*-lajien on todettu tuottavan, pektinaasia ja pektinaasia, fytasia (Dutkiewicz ym. 2016) ja ligninaasia (Rat ym. 2021).

Pantoea-suvun bakteerit voivat olla ihmisille joko haitallisia tai hyödyllisiä. Joidenkin *Pantoea*-lajien on raportoitu aiheuttavan opportunistisia infektioita pääasiassa kasvimateriaalin aiheuttaman ihon haavaumien kautta ja sairaalainfektioita immuunipuutteisilla potilailla. *P. agglomerans* -infektio voi johtaa esimerkiksi ihoallergioihin, nivel tulehdukseen ja verenmyrkytykseen (Wdowiak-Wróbel ym. 2024). Toisaalta joidenkin isolaattien tuottamia immunomodulaattoreita on hyödynnetty ihmisten sairauksien, kuten syövän, infektioiden ja allergioiden hoidossa (Walterson & Stavrínides 2015).

Pantoea-suvun bakteereita on raportoitu esiintyvän joissakin aasialaisissa perinteisesti fermentoiduissa ruoissa ja juomissa, kuten sufussa (Wu ym. 2022), punaisessa hapankeitossa (Lin ym. 2022), kimshissä (Jung ym. 2018) ja riisiviinissä (Zhao ym. 2020), joissa niiden on todettu vaikuttavan aromiyhdisteiden muodostumiseen ja siten tuotteiden makuun.

9. Hyödyntämis- ja tuotteistamismahdollisuudet

Kiinnostus entsyymien hyödyntämiseen kasvaa jatkuvasti, koska ympäristölainsäädäntö sekä energian ja kemiallisen kuormituksen vähentämistavoitteet kannustavat yrityksiä kehittämään ympäristöystävällisiä prosesseja. Pyrkimys parantaa rehutehokkuutta eläintuotannossa ja vesi- ja viljelyn kasvu lisäävät entsyymien käyttöä rehuteollisuudessa. Nopeasti kasvava valmisruokien käyttö ja ihmisten lisääntyvä terveystietoisuus edistävät entsyymien käyttöä parantamaan prosessoitujen elintarviketuotteiden aistittavaa laatua, säilyvyyttä ja ravitsemuksellista arvoa.

Kirjallisuuden perusteella valituilla entsyymeillä on käyttökohteita eri aloilla, kuten pesuaine-, paperi-, tekstiili-, nahka- ja lääketieteellisyydessä, bioremediaatiossa ja bioteknologiassa. Tässä tutkimuksessa keskityttiin kuitenkin valittujen entsyymien sovellusmahdollisuuksiin lähinnä elintarvike- ja rehukäytön kannalta. Seuraavassa on lyhyesti esitetty sellulaasin ja proteaasin sovelluskohteita elintarvike- ja rehuteollisuudessa, lakkaasin sovelluksista elintarviketeollisuudessa ja fytaasin käytöstä rehuteollisuudessa.

9.1. Entsyymien ominaisuuksista

9.1.1. Sellulaasi

Sellulaasi on entsyymi, joka pilkkoo selluloosaa glukoosiksi, ja se koostuu kolmesta entsyymistä: β -glukosidaasi, endo-1,4- β -D-glukanaasi (endoglukanaasi) ja ekso-1,4- β -D-glukanaasi (eksoglukanaasi) (Ejaz ym. 2021). Sellulaasia esiintyy mikrobeissa, kasveissa ja joissakin eläimissä.

Käyttökohteet elintarvikesovelluksiin

Sellulaaseja käytetään elintarviketeollisuudessa erityisesti leipomo-, panimo- ja hedelmä- ja vihannesmehuteollisuudessa tuotteiden laadun parantamiseen ja valmistusprosessien tehostamiseen (Kant 2025). Hedelmä- ja vihannesmehuteollisuudessa sellulaasia käytetään hydrolysoimaan hedelmien ja vihannesten soluseinien selluloosaa ja hemiselluloosaa, mikä parantaa mehun uuttoa, kirkkautta, stabiilisuutta ja kokonaissaantoa. Hedelmä- ja/tai vihannessoisten käsittelyssä sellulaaseja käytetään soseiden saannon lisäämiseen, lämmön aiheuttamien vaurioiden minimoimiseen sekä soseiden viskositeetin vähentämiseen. (Kumar ym. 2024). Mikrobisolot ja niihin liittyvät entsyymit ovat olennainen osa alkoholijuomien, kuten oluiden ja viinien, valmistuksen käymisprosesseissa. Oluen valmistuksessa sellulaasilla voidaan parantaa sekä oluen laatua että yleistä tuotantotehokkuutta (Sutaoney ym. 2024), ja viininvalmistuksessa viinin laatua, kuten stabiilisuutta, kirkkautta sekä väriä ja aromia (Kumar ym. 2024). Leipomoteollisuudessa sellulaasia käytetään taikinan ominaisuuksien muokkaamiseen ja leivonnaisten laadun parantamiseen. Sellulaasit pilkkovat jauhoissa olevat selluloosakuidut, mikä parantaa taikinan sitkoa ja lisää sen tilavuutta sekä parantaa leivän, kakkujen ja leivonnaisten rakennetta (Kant 2025).

Käyttökohteet rehusovelluksiin

Sellulaaseja käytetään eläinten rehujen ainesosien sulavuuden ja ravintoarvon parantamiseksi. Niiden lisääminen eläinten rehuun auttaa hajottamaan selluloosaa ja hemiselluloosaa, mikä lisää ravinteiden saatavuutta eläinten ruoansulatuksessa. Tämä parantaa rehun käyttöä,

tehostaa ravinteiden imeytymistä ja edistää eläinten kasvua ja kehitystä. Sellulaasien käyttö rehuissa yhdessä muiden entsyymien, kuten ksylanaasien, kanssa, voi johtaa parempaan rehun käyttötehokkuuteen, alhaisempiin rehukustannuksiin ja parempaan eläinten terveyteen. (Kant 2025).

9.1.2. Proteaasi

Proteaasit ovat entsyymejä, jotka hajottavat tai hydrolysoivat proteiineja ja peptidejä lyhyemmiksi peptideiksi ja aminohapoiksi. Proteaaseja esiintyy kaikissa elävissä organismeissa toimien erittäin merkittävässä roolissa niiden fysiologiassa. Mikrobioproteaasit voidaan luokitella esimerkiksi niiden aktiivisuuden perusteella tietyllä pH-alueella emäksisiin, happamiin ja neutraaleihin proteaaseihin (de Oliveira Sousa 2025).

Käyttökohteet elintarvikesovelluksiin

Elintarviketeollisuudessa happamia ja neutraaleja proteaaseja käytetään edistämään tuotteiden laatua ja toiminnallisia ominaisuuksia, kuten makua, rakennetta ja ravintoarvoa sekä parantamaan prosessitehokkuutta (Okpara 2022). Meijeriteollisuudessa juustonvalmistuksessa proteaaseja lisätään maitoon maidon proteiinin saostamiseksi. Proteaasit parantavat myös juuston aistittavia ja rakenteellisia ominaisuuksia sekä vähentävät joidenkin fermentoitujen maitotuotteiden allergisia ominaisuuksia. (Okpara 2022). Proteaasit ovat tärkeitä panimoteollisuudessa. Oluen tai viskin valmistuksessa proteaaseja käytetään parantamaan käymisprosessia ja tuotteiden yleistä laatua. Leivontateollisuudessa proteaaseja lisätään jauhoihin leivonnaisten valmistuksen yhteydessä taikinan leivottavuuden parantamiseksi. Lihateollisuudessa proteaaseja käytetään lihan mureuttamiseen, mikä parantaa lihan reologisia ominaisuuksia. (Okpara 2022).

Käyttökohteet rehusovelluksiin

Proteaaseja käytetään yksimahaisten eläinten (siipikarja, sika, kala) rehujen lisäaineena. Ne parantavat valkuaispitoisuudeltaan alhaisten rehujen ravitsemuksellista laatua ja rehun ravintoaineiden sulavuutta siten edistäen eläinten kasvua. Ne myös edistävät ruoansulatuskanavan kehittymistä nuorilla eläimillä. Lisäksi proteaasit pystyvät hydrolysoimaan palkokasvien ravitsemuksellisesti haitallisia yhdisteitä parantaen eläinten tuotantokykyä. Vesiviljelyssä proteaasillisella voidaan vähentää kalajauhon määrää heikentämättä kalojen kasvua ja kehitystä. Lisäksi proteaasillisä parantaa veden laatua vesiviljelyssä, sillä sen käyttö kalanrehussa voi parantaa fosforin käyttöä ruuansulatuksessa ja siten vähentää fosforin erittymistä ulosteen mukana veteen (de Oliveira Sousa 2025).

9.1.3. Lakkaasi

Lakkaasi on entsyymi, joka katalysoi laajasti erilaisten fenolisten ja ei-fenolisten yhdisteiden hapettumista pelkistäen molekyylihapen vedeksi. Lakkaasia esiintyy kasveissa, hyönteisissä, bakteereissa ja sienissä. Laajan substraattispesifisyytensä ja ympäristöystävällisen ominaisuutensa vuoksi lakkaasia käytetään monenlaisissa vihreän kemian prosesseissa (Zhai ym. 2024).

Käyttökohteet elintarvikesovelluksiin

Erilaisten fenolisten ja ei-fenolisten yhdisteiden hapettamiskyvyn ansiosta lakkaasia käytetään elintarviketeollisuudessa sekä elintarvikkeiden valmistuksessa tuotteiden laadun tai säilyvyyden parantamiseksi että jätevesien puhdistuksessa (Mayolo-Deloisa ym. 2020). Leipomoteollisuudessa lakkaasi käytetään parantamaan taikinan koostumusta ja sitkoa (Mayolo-Deloisa ym. 2020), ja sillä voidaan muuttaa ruoan aistinvaraisia ominaisuuksia, kuten parantaa suklaan makua, vähentää oliivien karvautta ja voimistaa soijaproteiinihydrolysaattien makua ja teepohjaisten juomien väriä (Zhai ym. 2024). Lakkaasia voidaan käyttää hajottamaan elintarviketeollisuuden, kuten oliiviöljy-, melassi- ja panimoteollisuuden jätevesien fenolisia yhdisteitä (Okpara 2022), mikä edistää ympäristönsuojelua ja kestävästä kehitystä (Zhai ym. 2024).

Juomateollisuudessa lakkaasia käytetään viinin fenoliyhdisteiden stabiloimiseksi maun ja värin ylläpitämiseksi perinteisten stabilointimenetelmien, kuten rikkidioksidin, asemesta (Mayolo-Deloisa ym. 2020). Lakkaasia käytetään myös korkin ja viinin vuorovaikutuksesta johtuvan karvouden lieventämiseksi (Zhai ym. 2024). Oluen valmistuksessa lakkaasia käytetään oluen stabilointiin estämään sameuden muodostumista pitkän säilytyksen aikana. Oluen säilyvyysaikaa voidaan pidentää lisäämällä lakkaasia tuotantoprosessin lopussa fenoliyhdisteiden hapettamiseksi (Okpara 2022).

Fenoliset yhdisteet ja niiden hapettumistuotteet heikentävät merkittävästi myös hedelmämeijerijien aistittavaa laatua. Lakkaasilla voidaan parantaa mehujen kirkkautta ilman ravintoaineiden häviämistä (Zhai ym. 2024).

Käyttökohteet rehusovelluksiin

Lakkaasin käytöstä eläinten rehuissa on joitain tutkimuksia (esimerkiksi Yue ym. 2020), mutta ilmeisesti sitä ei käytetä niiden valmistuksessa Euroopassa, sillä ainakaan Market Research Intelligent (2025) ei mainitse lakkaasin käyttöä rehuteollisuudessa Euroopan markkinoilla.

9.1.4. Fytaasi

Fytaasit ovat entsyymejä, jotka hydrolysoivat fytaattia epäorgaaniseksi fosfaatiksi ja pienemmiksi inositolifosfaateiksi (Yadav ym. 2025). Fytaasit luokitellaan niiden katalyyttisen mekanismin (histidiinihappo-, propelleri-, kysteiini- ja purppurahappofytaasit), pH-optimin (happamat tai emäksiset fytaasit) ja fytaattihydrolyysin aloituskohdan (3-fytaasi, 6-fytaasi ja 5-fytaasi) mukaan (Nielsen ym. 2013). Fytaaseja esiintyy bakteereissa, hiivoissa ja sienissä sekä kasvi- ja eläinkudoksissa (Yadav ym. 2025).

Käyttökohteet rehusovelluksiin

Fytaatti (myo-inositoli (1,2,3,4,5,6)-heksakisfosfaatti) on orgaanisen fosforin varastomuoto kasveissa. Fytaatti sitoo voimakkaasti välttämättömiä mineraaleja, kuten kalsiumia, rautaa, sinkkiä ja magnesiumia, ja muodostaa sulamattomia komplekseja proteiinien, lipidien ja tarkkelysten kanssa, mikä vähentää yksimahaisten eläinten ravinteiden kokonaissaatavuutta (Yadav ym. 2025). Fytaatin sulamattomuus johtaa fosforin huonoon hyväksikäyttöön ruuansulatuksessa, jolloin eläimen kasvu heikkenee. Lisäksi sulamatonta fytaattiin sitoutunutta fosforia erittyy ympäristöön, mikä edistää rehevöitymistä, leväkukintoja ja hapettomia olosuhteita vesiekosysteemeissä.

Fytaaasia käytetäänkin yksimahaisten eläinten rehuissa tehostamaan epäorgaanisen fosforin vapautumista fytaalista, mikä parantaa mineraalien saatavuutta, proteiinien sulavuutta ja yleistä rehun hyötysuhdetta sekä eläimen kasvukykyä. Samalla ulosteen fosforin määrä vähennee, mikä vähentää ympäristövaikutuksia.

9.2. Vesirutosta eristettyjen bakteeri-isolaattien tuottamien entsyymien hyödyntämispotentiaali

Tulosten ja kirjallisuuden perusteella tässä työssä testatuilla bakteeri-isolaateilla voi olla potentiaalia moniin eri käyttötarkoituksiin erityisesti niiden entsyymituotannon perusteella (Taulukko 7).

Monet isolaatit osoittivat samantasoista tai jotkut isolaatit jopa suurempaa entsyymiaktiivisuutta 15 °C:ssa kuin 20 °C:ssa. Jatkotutkimuksen kannalta tämä on kiinnostava seikka, sillä kyseiset isolaatit voivat olla psykrotrofisia bakteereita, jotka kasvavat ja joiden entsyymit toimivat matalissa lämpötiloissa. Tuotteistamisnäkökulmasta tämä ominaisuus on hyödyllinen, sillä kylmässä toimivien entsyymien avulla pystytään vähentämään prosessien energiankulutusta monilla eri sovellusalueilla. Jatkotutkimuksia tarvitaan selvittämään näiden mikrobien tuottamien entsyymien määriä ja puhdistusta sekä karakterisoimaan ominaisuuksia kuten toimintakykyä eri lämpötila-, suolapitoisuus- ja pH-alueilla.

Taulukko 7. Isolaattien entsyymiaktiivisuudet sekä 15 että 20 °C:ssa.

Isolaatti	Bakteerisuku	Entsyymiaktiivisuus 20 °C:ssa	Entsyymiaktiivisuus 15 °C:ssa
99	<i>Duganella</i>	sellulaasi	proteaasi
162	<i>Exiguobacterium</i>	sellulaasi ja proteaasi	proteaasi
204	<i>Lactococcus</i>	proteaasi	proteaasi
145	<i>Pantoea</i>	fytaasi	fytaasi
53	<i>Pseudomonas</i>	proteaasi	proteaasi
190	<i>Pseudomonas</i>	proteaasi, fytaasi	proteaasi, fytaasi
168	<i>Pseudomonas</i>	proteaasi	proteaasi
95	<i>Pseudomonas</i>	proteaasi, fytaasi	proteaasi, fytaasi

10. Päätelmät

Tässä työssä selvitimme vesiruttokasvustoista eristettyjen bakteerien hyödyntämis- ja tuotteistamismahdollisuuksia rehu-, elintarvike-, biostimulantti- ja biotorjuntasovelluksiin.

Sekvensointia käyttäen tunnistimme isolaatteja kymmenestä eri suvusta, joista *Duganella*, *Exiguobacterium* ja *Pantoea* -suvut ovat Suomessa melko tuntemattomia. Kirjallisuuden perusteella niitä on kuitenkin eristetty monenlaisista psykoofiilistä, mesofiilistä ja termofiilistä maa- ja vesiympäristöistä.

Entsyymiaktiivisuustulosten perusteella kiinnostava havainto on se, että monien isolaattien tuottamat entsyymit toimivat matalissa lämpötiloissa. Tuotteistamisnäkökulmasta tämä ominaisuus on hyödyllinen, sillä sellaisten entsyymien käytön avulla pystytään vähentämään prosessien energiankulutusta monilla eri sovellusalueilla. Isolaattien tuottamilla entsyymeillä on hyödyntämismahdollisuuksia ruoantuotannossa elintarvikkeissa ja tuotantoeläinten rehuissa myös tuotteiden laadun ja toiminnallisten ominaisuuksien sekä ravintoarvon ja ravinteiden hyötysuhteen näkökulmasta.

Jatkotutkimuksia tarvitaan selvittämään näiden mikrobien tuottamien entsyymien määriä ja puhdistusta sekä karakterisoimaan ominaisuuksia kuten toimintakykyä eri lämpötila-, suolapitoisuus- ja pH-alueilla. Lisäksi eristämämme isolaattien entsyymiaktiivisuus kannattaa määrittää laajakirjoisesti, sillä esimerkiksi *Exiguobacterium*-, *Duganella*- ja *Pantoea* -lajien on todettu tuottavan myös muita erilaisia hydrolyyttisiä entsyymeitä.

Isolaateilla ei havaittu kasvien kasvua edistäviä vaikutuksia, vaan jotkut isolaatit sen sijaan heikensivät kasvien kehitystä. Näiden mikrobien kohdalla heräkin kysymys, toimisivatko ne rikakasvien torjunnassa bioherbisidinä.

Työssämme havaitsimme joillakin isolaateilla taudinestovaikutusta huomattavia satotappioita aiheuttavia kasvipatogeeneja vastaan. Näiden lupaavien tulosten vuoksi kyseisten isolaattien testaamista biotorjuntasovelluksissa kannattaa jatkaa, sillä kirjallisuuden perusteella esimerkiksi joistakin *Pseudomonas*-, *Bacillus*-, *Lactobacillus*-, *Pantoea*- ja *Weissella*-suvun kannoista on jo kehitetty kaupallisia biologisia torjunta-aineita.

Viitteet

- Apprill, A., McNally, S., Parsons, R. & Weber, L. 2015. Minor revision to V4 region SSU rRNA 806R gene primer greatly increases detection of SAR11 bacterioplankton. *Aquatic Microbial Ecology* 75(2): 129–137. <http://doi.org/10.3354/ame01753>
- Aranda, S., Montes-Borrego, M. & Landa, B.B. 2011. Purple-pigmented violacein-producing *Duganella* spp. inhabit the rhizosphere of wild and cultivated olives in southern Spain. *Microbial Ecology* 62(2): 446–459. doi: 10.1007/s00248-011-9840-9
- Bonaterrea, A., Badosa, E., Daranas, N., Francés, J., Roselló, G. & Montesinos, E. 2022. Bacteria as biological control agents of plant diseases. *Microorganisms* 10: 1759. <https://doi.org/10.3390/microorganisms1009175>
- Bond, J.S. 2019. Proteases: history, discovery, and roles in health and disease. *Journal of Biological Chemistry* 294: 1643–1651. doi: 10.1074/jbc.TM118.004156.
- Bowmer, K.H., Jacobs, S.W.L. & Sainty, G.R. 1995. Identification, biology and management of *Elodea canadensis*, *Hydrochar itaceae*. *Journal of Aquatic Plant Management* 33: 13–19.
- Castro-Severyn, J., Remonsellez, F., Valenzuela, S.L., Salinas, C., Fortt, J., Aguilar, P., Pardo-Esté, C., Dorador, C., Quatrini, R., Molina, F., Aguayo, D., Castro-Nallar, E. & Saavedra, C.P. 2017. Comparative genomics analysis of a new *Exiguobacterium* strain from Salar de Huasco reveals a repertoire of stress-related genes and arsenic resistance. *Frontiers in Microbiology* 8: 456. doi: 10.3389/fmicb.2017.00456
- Cavicchioli, R., Siddiqui, K.S., Andrews, D. & Sowers, K.R. 2002. Low-temperature extremophiles and their applications. *Current Opinion in Biotechnology* 13(3): 253–261. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00317-8](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00317-8)
- Chen, X., Wang, L., Zhou, J., Wu, H., Li, D., Cui, Y. & Lu, B. 2017. *Exiguobacterium* sp. A1b/GX59 isolated from a patient with community-acquired pneumonia and bacteremia: genomic characterization and literature review. *BMC Infectious Diseases* 17(1): 508. doi: 10.1186/s12879-017-2616-1.
- Choi, S., Kim, S., Lyuck, S., Kim, S.B. & Mitchell, R.J. 2015. High-level production of violacein by the newly isolated *Duganella violaceinigra* str. NI28 and its impact on *Staphylococcus aureus*. *Scientific Reports* 5: 15598. <https://doi.org/10.1038/srep15598>
- Collinge, D.B., Funck Jensen, D., Shaw, M.W. & Shaw, R.H. 2022. Biological control of plant diseases – What has been achieved and what is the direction? *Plant Pathology*, 71: 1024–1047. <https://doi.org/10.1111/ppa.13555>
- Collins, M.D., Lund, B.M., Farrow, J.A.E. & Schleifer, K.H. 1983. Chemotaxonomic study of an alkalophilic bacterium, *Exiguobacterium aurantiacum* gen nov., sp. nov. *Journal of General Microbiology* 129: 2037–2042. <https://doi.org/10.1099/00221287-129-7-2037>
- de Oliveira Sousa, T., Araújo da Silva, N., de Melo Oliveira, V., da Silva Ramos, A.V., Barbosa Filho, J.P.M., Batista, J.M. da S., ... Nascimento, T.P. 2025. Use of proteases for animal feed supplementation: scientific and technological updates. *Preparative Biochemistry & Biotechnology* 55(7): 797–809. <https://doi.org/10.1080/10826068.2025.2465957>

- Custer, G.F, Meador, B.A., Fowers, B. & van Diepen L.T.A. 2024. Soil microbiome analysis supports claims of ineffectiveness of *Pseudomonas fluorescens* D7 as a biocontrol agent of *Bromus tectorum*. *Microbiology Spectrum* 12: e01771-23.
<https://doi.org/10.1128/spectrum.01771-23>
- Direktiivi 2009/128/EY. Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivi 2009/128/EY, annettu 21 päivänä lokakuuta 2009, yhteisön kasvinsuojeluaineiden kestävä käytön puiteohjelman luomisesta. EUVL L 309, 24.11.2009, s. 71–86.
<https://faolex.fao.org/docs/pdf/eur186214.pdf>.
- Duchateau, S., Crouzet, J., Dorey, S. & Aziz, A. 2024. The plant-associated *Pantoea* spp. as biocontrol agents: mechanisms and diversity of bacteria-produced metabolites as a prospective tool for plant protection. *Biological Control* 188: 105441.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105441>
- Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Lemieszek, M.K., Golec, M. & Milanowski, J. 2016. *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part IV. Beneficial effects. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 23(2): 206–222.
- Erhard, D. & Gross, E.M. 2006. Allelopathic activity of *Elodea canadensis* and *Elodea nuttallii* against epiphytes and phytoplankton. *Aquatic Botany* 85: 203–211.
- Erhard, D. 2005. Chemoecological investigations of the invasive waterweeds *Elodea* spp. Dissertation. Universität Konstanz. <https://kops.uni-konstanz.de/entities/publication/b067637a-8027-4d98-b4e5-d87295d9f199>
- Ejaz, U., Sohail, M. & Ghanemi, A. 2021. Cellulases: from bioactivity to a variety of industrial applications. *Biomimetics* 6: 44. <https://doi.org/10.3390/biomimetics6030044>
- Gao, F., Liang, Q., Zong, R., Xie, Y., Zhao, C., Yang, Y., Yu, L., Li, D., Duan, H., Du, W. & Li, Y. 2025. Isolation, identification, and antimicrobial susceptibility of *Exiguobacterium mexicanum* from a giraffe. *Veterinary Sciences* 12(10): 969. doi: 10.3390/vetsci12100969.
- Gavini, F., Mergaert, J., Beji A., Mielcarek C., Iazard D., Kersters K. & De Ley J. 1989. Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and description of *Pantoea dispersa* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 39(3): 337–345.
- Ghyselinck, J., Velivelli, S.L.S., Heylen, K., O’Herlihy, E., Franco J., Rojas, M., De Vos, P. & Prestwich, B.D. 2013. Bioprospecting in potato fields in the central andean highlands: screening of rhizobacteria for plant growth-promoting properties. *Systematic and Applied Microbiology* 36: 116–127. doi: 10.1016/j.syapm.2012.11.007
- Gohel, H.R., Contractor, C.N., Ghosh, S.K. & Braganza, V.J. 2014. A comparative study of various staining techniques for determination of extra cellular cellulase activity on Carboxy Methyl Cellulose (CMC) agar plates. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3(5): 261–266.
- Haack, F.S., Poehlein, A., Kröger, C., Voig, C.A., Piepenbring, M., Bode, H.B., Daniel, R., Schäfer, W. & Streit, W.R. 2016. Molecular keys to the *Janthinobacterium* and *Duganella* spp. interaction with the plant pathogen *Fusarium graminearum*. *Frontiers in Microbiology* 7: 1668. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01668>

- Heo, J., Won, M., Lee, D., Han, B.H., Hong, S.B. & Kwon, S.W. 2022. *Duganella dendranthematis* sp. nov. and *Massilia forsythiae* sp. nov., isolated from flowers. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 72(8): 005487. <https://doi.org/10.1099/ij-sem.0.005487>
- Hiltunen, L. & Virtanen, E. 2017. Vesiruttoa pellolle - paranisiko kasvu ja vähenisivätkö kasvitaudit? Julkaisussa: Karjalainen, S. M., Välimaa A.-L., Hellsten, S. & Virtanen, E. 2017. Vesiruton hyötykäyttö biotaloudessa – järvien riesasta raaka aineeksi. Elodea-hankkeen loppuraportti. Suomen ympäristökeskuksen raportteja 18/2017: 49–60. <http://hdl.handle.net/10138/218283>
- Hiltunen, L. & Välimaa, A.-L. 2022. Vesirutosta eristetyt mikrobit. Julkaisussa: Nilivaara, R., Hiltunen, L., Joki-Tokola, E., Kahiluoto, J., Karvonen, J., Kuoppala, M., Lötjönen, T., Niemistö, J., Satomaa, M., Tahkola, H., Ulvi, T., Välimaa, A.-L. & Hellsten, S. Vesiruton energia ja ravinteet talteen. Suomen ympäristökeskuksen raportteja 9/2022. 97 s. <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-11-5465-2>
- Hiraishi, A., Shin, Y.K. & Sugiyama J. 1997. Proposal to reclassify *Zoogloea ramigera* IAM 12670 (P.R. Dugan 115) as *Duganella zoogloeooides* gen. nov., sp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology 47(4): 1249–1252. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-4-1249>
- Huusela-Veistola, E., Hellsten, S., Holmala, K., Hyvönen, T., Kauhala, K., Lindqvist, B., Liukko, U.-M., Kuoppala, M., Seimola, T., Teeriaho, T., Rytteri, T., Tuhkanen, E.-M. & Urho, L. 2020. Ehdotus kansallisesti haitallisten vieraslajien hallintasuunnitelmaksi. Valtioneuvoston selvitys- ja tutkimustoiminnan julkaisusarja 2020:32. <https://urn.fi/URN:ISBN:978-952-287-939-4>.
- Jiang, M., Delgado-Baquerizo, M., Yuan, M.M., Ding, J., Yergeau, E., Zhou, J., Crowther, T.W. & Liang, Y. 2023. Home-based microbial solution to boost crop growth in low-fertility soil. New Phytologist 239(2): 752–765. <https://doi.org/10.1111/nph.18943>
- Jung, M.Y., Kim, T.-W., Lee, C., Kim, J.Y., Song, H.S., Kim, Y.B., Ahn, S.W., Kim, J.S., Roh, S.W. & Lee, S.H. 2018. Role of jeotgal, a Korean traditional fermented fish sauce, in microbial dynamics and metabolite profiles during kimchi fermentation. Food Chemistry 265: 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.093>.
- Kant, S., Das, S., Roy, S. & Tripathy, S. 2025. Fungal cellulases: a comprehensive review. Nucleus 68: 369–385. <https://doi.org/10.1007/s13237-024-00501-6>
- Kasana, R.C. & Pandey, C.B. 2018. *Exiguobacterium*: an overview of a versatile genus with potential in industry and agriculture. Critical Reviews in Biotechnology 38(1): 141–156. doi: 10.1080/07388551.2017.1312273
- Karjalainen, S.M., Välimaa, A.-L., Hellsten, S. & Virtanen, E. (toim.) 2017. Vesiruton hyötykäyttö biotaloudessa – järvien riesasta raaka-aineeksi. Elodea-hankkeen loppuraportti. Suomen ympäristökeskuksen raportteja 18/2017. Suomen ympäristökeskus. <http://hdl.handle.net/10138/218283>

- Kim, Y.-H., Gwon, M.-N., Yang, S.-Y., Park, T.-K., Kim, C.-G., Kim, C.-W. & Song M.-D. 2002. Isolation of phytase-producing *Pseudomonas* sp. and optimization of its phytase production. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 12(2): 279–285.
- King, R.R., Lawrence, C.H. & Gray, J.A. 2001. Herbicidal properties of the thaxtomin group of phytotoxins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(5): 2298–2301.
- Khajuria, A. & Nonzom, S. 2025. Unveiling the psychrozyme potential of micro-fungi inhabiting the high altitude passes of the trans-Himalayas. *Biotechnology Letters* 47(5): 104. doi: 10.1007/s10529-025-03649-6.
- Keilin, D. & Mann, T. 1939. Laccase, a blue copper-protein oxidase from the Latex of *Rhus succedanea*. *Nature* 143: 23–24. <https://doi.org/10.1038/143023b0>
- Kishiro, K., Sahin, N., Saisho, D., Yamaji, N., Yamashita, J., Monden, Y., Nakagawa, T., Mochida, K. & Tani, A. 2025. *Duganella hordei* sp. nov., *Duganella caerulea* sp. nov., and *Duganella rhizosphaerae* sp. nov., isolated from barley rhizosphere. *Antonie van Leeuwenhoek* 118: 46. <https://doi.org/10.1007/s10482-025-02160-2>
- Kothe, C.I., Rasmussen, J.A., Mak, S.S.T., Gilbert, M.T.P. & Evans, J. 2024. Exploring the microbial diversity of novel misos with metagenomics. *Food Microbiology* 117: 104372. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104372>.
- Kumar, A., Dhiman, S., Krishan, B., Samtiya, M., Kumari, A., Pathak, N., Kumari, A., Aluko, R.E. & Dhewa, T. 2024. Microbial enzymes and major applications in the food industry: a concise review. *Food Production, Processing and Nutrition* 6: 8. <https://doi.org/10.1186/s43014-024-00261-5>
- Köhl, J., Kolnaar, R. & Ravensberg, W.J. 2019. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science* 10: 845. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>
- Li, W.J., Zhang, Y.Q., Park, D.J., Li, C.T., Xu L.H., Kim, C.J. & Jiang, C.L. 2004. *Duganella violaceinigra* sp. nov., a novel mesophilic bacterium isolated from forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54(5): 1811–1814. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63141-0>
- Liang, W., Nong, Q., Huang, H., Huang, J., Shao, J., Wang, M., Hong, P., Liu, S., Zhou, C., Zhong, S. & Hong, Y. 2025. Effects of different koji-making conditions on volatile flavor compounds in fermented shrimp juice. *International Journal of Gastronomy and Food Science* 42: 101357. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2025.101357>.
- Lin, L.J., Zeng J., Tian, Q.M., Ding, X.Q., Zhang, X.Y. & Gao, X.Y. 2022. Effect of the bacterial community on the volatile flavour profile of a Chinese fermented condiment - red sour soup - during fermentation. *Food Research International* 155: 111059. doi: 10.1016/j.foodres.2022.111059.
- Liu, H., Huang, A., Yi, J., Luo, M., Jiang, G., Guan, J., Liu, S., Deng, C. & Luo, D. 2024. Effects of inoculation with koji and strain *Exiguobacterium profundum* FELA1 on the taste, favor, and bacterial community of rapidly fermented shrimp paste. *Foods* 13: 2523. <https://doi.org/10.3390/foods13162523>

- López, M.C., Galán, B., Carmona, M., Navarro Llorens, J.M., Peretó, J., Porcar, M., Getino, L., Olivera, E.R., Luengo, J.M., Castro, L. & García, J.L. 2021. Xerotolerance: A New Property in *Exiguobacterium* Genus. *Microorganisms* 9(12): 2455. doi: 10.3390/microorganisms9122455.
- López-Serrano, L., Scalschi, L., Simeón, R. & González-Hernández, A. 2026. Harnessing the power of biostimulants: a comprehensive review of their role in enhancing agricultural productivity and sustainability. *Applied Sciences* 16(4): 1924. <https://doi.org/10.3390/app16041924>
- Lorenzi, A.S., Bonatelli, M.L., Chia, M.A., Peressim L. & Quecine M.C. 2022. Opposite sides of *Pantoea agglomerans* and its associated commercial outlook. *Microorganisms* 10(10): 2072. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10102072>
- Lu, H., Deng, T., Liu, F., Wang, Y., Yang, X. & Xu, M. 2020. *Duganella lactea* sp. nov., *Duganella guangzhouensis* sp. nov., *Duganella flavida* sp. nov. and *Massilia rivuli* sp. nov., isolated from a subtropical stream in PR China and proposal to reclassify *Duganella ginsengisoli* as *Massilia ginsengisoli* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 70(8):4822–4830. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004355>
- Mandic, M., Djokic, L., Nikolaivits, E., Prodanovic, R., O'Connor, K., Jeremic, S., Topakas, E. & Nikodinovic-Runic, J. 2019. Identification and characterization of new laccase biocatalysts from *Pseudomonas* species suitable for degradation of synthetic textile dyes. *Catalysts* 9: 629. <https://doi.org/10.3390/catal9070629>
- Market Reports World (MRW) 2026. <https://www.marketreportsworld.com/market-reports/laccase-market-14716678>. Viitattu 23.3.2026
- Market Research Future (MRFR) 2026. <https://www.marketresearchfuture.com/reports/cellulase-market-22250>. Viitattu 23.3.2026
- Market Research Future (MRFR) 2025. <https://www.marketresearchfuture.com/reports/proteases-market-5283>. Viitattu 23.3.2026
- Market Research Intelligent 2025. Europe laccase market by application: growth projections and share overview. <https://www.linkedin.com/pulse/europe-laccase-market-application-growth-projections-hgsce>. Viitattu 23.3.2026
- Mayolo-Deloisa, K., González-González, M. & Rito-Palomares, M. 2020. Laccases in food industry: bioprocessing, potential Industrial and biotechnological applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 8: 222. doi:10.3389/fbioe.2020.00222
- Meng, X., Chang, YQ, Zhou, L.-Y. & Du, Z.-J. 2020. *Exiguobacterium flavidum* sp. nov., isolated from the red maple lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 70: 2359–2365. doi: 10.1099/ijsem.0.004048.
- Montesinos, E. & Bonaterra, A. 2009. Microbial pesticides. In *Encyclopedia of Microbiology*, 3rd ed.; Schaechter, M., Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands. pp. 110–120.
- Männistö, M.K. & Häggblom, M.M. 2006. Characterization of psychrotolerant heterotrophic bacteria from Finnish Lapland. *Systematic and Applied Microbiology* 29: 229–243.

- Nautiyal, C.S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms, *FEMS Microbiology Letters* 170(1): 265–270.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- Nayak, K., Tiwari, R., Parte V., Chouhan, M., Kumar, P., Verma, B., Jayant, R. & Pandey, A. 2024. Bio-herbicides: an eco-friendly approach for integrated weed management. *International Journal of Advanced Biochemistry Research* 8: 828–840.
<https://doi.org/10.33545/26174693.2024.v8.i5j.1201>
- Neal, J.C. 2014. Evaluations of biological based alternatives for broadleaf weed control in turf and ornamentals. Final Report. North Carolina State University. 77 p.
<https://ir4.cals.ncsu.edu/biopesticides/bioFinalReport/2014-18A.pdf>
- Neumann, G., Nawaz, F., Weinmann, M., Arbona, V., Balestrini, R., Pagliarani, C. & Gonzalez-Guzman, M. 2024. Editorial: Enhancing sustainable crop production: biostimulants and biotechnological approaches in challenging climates. *Frontiers in Plant Science* 15: 1534774. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1534774>
- Nielsen, A.V.F., Tetens, I. & Meyer, A.S. 2013. Potential of phytase-mediated iron release from cereal-based foods: a quantitative view. *Nutrients* 5: 3074–3098.
<https://doi.org/10.3390/nu5083074>
- Nilivaara, R., Hiltunen, L., Joki-Tokola, E., Kahiluoto, J., Karvonen, J., Kuoppala, M., Lötjönen, T., Niemistö, J., Satomaa, M., Tahkola, H., Ulvi, T., Välimaa, A.-L., Hellsten, S. 2022. Vesiruton energia ja ravinteet talteen. Suomen ympäristökeskuksen raportteja 9/2022. 97 s.
<http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-11-5465-2>
- Okpara, M.O. 2022. Microbial enzymes and their applications in food industry: a mini review. *Advances in Enzyme Research* 10(1): 23–47.
- Paz-Ares, J., Puga, M.I., Rojas-Triana, M., Martinez-Hevia, I., Diaz, S., Poza-Carrión, C., Miñambres, M. & Leyva, A. 2021. Plant adaptation to low phosphorus availability: Core signaling, crosstalks, and applied implications. *Molecular Plant* 15: 104–124.
doi: 10.1016/j.molp.2021.12.005.
- Parada, A.E., Needham, D.M. & Fuhrman, J.A. 2016. Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mockcommunities, time series and global field samples. *Environmental Microbiology* 18(5): 1403–1414.
<http://doi.org/10.1111/1462-2920.13023>
- Pirttilä, A.M., Mohammad Parast Tabas, H., Baruah, N. & Koskimäki, J.J. 2021. Biofertilizers and biocontrol agents for agriculture: how to identify and develop new potent microbial strains and traits. *Microorganisms* 9(4): 817. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040817>
- Pliego, C., Ramos, C., de Vicente, A. & Cazorla, F.M. 2011. Screening for candidate bacterial biocontrol agents against soilborne fungal plant pathogens. *Plant Soil* 340: 505–520.
<https://doi.org/10.1007/s11104-010-0615-8>

- Prokopuk, M., Zub, L., Netsvetov, M., Martins, S. & Marchante, E. 2026. Comparative studies of invasive *Elodea canadensis* Michx. in two climatically different regions. *Aquatic Botany* 202: 103944. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2025.103944>
- Kasana, R.C. & Pandey, C.B. 2018. *Exiguobacterium*: an overview of a versatile genus with potential in industry and agriculture, *Critical Reviews in Biotechnology* 38(1): 141–156. doi: 10.1080/07388551.2017.1312273
- Rat, A., Naranjo, H.D., Krigas, N., Grigoriadou, K., Maloupa, E., Alonso, A.V., Schneider, C., Pappageorgiou, V.P., Assimopoulou, A.N., Tsafantakis, N., Fokialakis, N. & Willems A. 2021. Endophytic bacteria from the roots of the medicinal plant *Alkanna tinctoria* Tausch (Boraginaceae): Exploration of plant growth promoting properties and potential role in the production of plant secondary metabolites. *Frontiers in Microbiology* 12: 633488. doi: 10.3389/fmicb.2021.633488
- Raths, R., Peta, V. & Bücking, H. 2019. Draft genome sequence of *Duganella* sp. Strain DN04, isolated from cultivated soil. *Microbiology Resource Announcements* 8(32): e00848-19. doi: 10.1128/MRA.00848-19.
- Raymaekers, K., Ponet, L., Holtappels, D., Berckmans, B. & Cammue, B.P.A. 2020. Screening for novel biocontrol agents applicable in plant disease management– A review. *Biological control* 144: 104240. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104240>
- Robinson, P.K. 2015. Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in Biochemistry* 59: 1–41. doi: 10.1042/bse0590001
- Rodrigues, D.F., Ivanova, N., He, Z., Huebner, M., Zhou, J. & Tiedje, J.M. 2008. Architecture of thermal adaptation in an *Exiguobacterium sibiricum* strain isolated from 3 million year old permafrost: a genome and transcriptome approach. *BMC Genomics* 9: 547. doi: 10.1186/1471-2164-9-547.
- Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S.J. & Nelson, A. 2019. The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution* 3: 430–439.
- Shao, Y., Jiang, S., Peng, H., Li, H., Li, P., Jiang, R., Fang, W., Chen, T., Jiang, G., Yang, T., Nambesan, S.U., Xu, Y. & Dong, C. 2023. Indigenous and commercial isolates of arbuscular mycorrhizal fungi display differential effects in *Pyrus betulaefolia* roots and elicit divergent transcriptomic and metabolomic responses. *Frontiers in Plant Science* 13: 1040134. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1040134>
- Sharma, B.M., Debashree Borthakur, D. & Upadhye, V.J. 2025. *Exiguobacterium acetylicum* from Hentak: A dual-functional strain with probiotic and aroma-enhancing capabilities *Annals of Microbiology* 75: 29. <https://doi.org/10.1186/s13213-025-01819-5>
- Solanki, P., Putatunda, C., Kumar, A., Bhatia, R. & Walia, A. 2021. Microbial proteases: ubiquitous enzymes with innumerable uses. *3 Biotech* 11(10): 428. doi: 10.1007/s13205-021-02928-z.
- Sutaoney, P., Rai, S.N., Sinha, S., Choudhary, R., Gupta, A.K., Singh, S.K. & Banerjee, P. 2024. Current perspective in research and industrial applications of microbial cellulases. *International Journal of Biological Macromolecules* 264(1): 130639. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130639>.

- Tekiela, D.R. 2017. Use of *Pseudomonas fluorescens* as a bioherbicide for cheatgrass and other invasive winter annual grass control. University of Wyoming Extension Factsheet. 2p. <https://www.uwyo.edu/ipm/files/docs/ag-ipm-docs/weed-ipm-docs/use-of-pseudomonas-fluorescens-as-a-bioherbicide-for-cheatgrass-and-other-invasive-winter-annual-grass-control.pdf>
- Towards FnB 2026. <https://www.towardsfnb.com/insights/animal-feed-phytase-market>. Viitattu 23.3.2026
- Utama, G.L., Sahab, N.R.M., Nurmilah, S., Yarlina, V.P., Subroto, E. & Balia, R.L. 2025. Unveiling microbial dynamics in terasi spontaneous fermentation: insights into glutamate and GABA production. *Current Research in Food Science* 10: 100950. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100950>.
- Verma, P., Yadav, A.N., Kazy, S.K., Saxena, A.K. & Suman, A. 2014. Evaluating the diversity and phylogeny of plant growth promoting bacteria associated with wheat (*Triticum aestivum*) growing in central zone of India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3(5): 432–447.
- Vishnivetskaya, T.A., Kathariou, S. & Tiedje, J.M. 2009. The *Exiguobacterium* genus: biodiversity and biogeography. *Extremophiles* 13: 541–555. <https://doi.org/10.1007/s00792-009-0243-5>
- Välimaa, A.-L. 2017. Soveltuisiko vesirutto elintarvikkeeksi tai kosmetiikkateollisuuteen? Julkaisussa: Karjalainen, S.M., Välimaa A.-L., Hellsten, S. & Virtanen, E. 2017. Vesiruton hyötykäyttö biotaloudessa – järvien riesasta raaka aineeksi. Elodea-hankkeen loppuraportti. Suomen ympäristökeskuksen raportteja 18/2017: 49–60. <http://hdl.handle.net/10138/218283>
- Välimaa, A.-L., Raitanen, J.-E., Tienaho, J., Sarjala, T., Nakayamad, E., Korpinen, R., Mäkinen, S., Eklundf, P., Willför, S. & Jyske, T. 2020. Enhancement of Norway spruce bark side-streams: Modification of bioactive and protective properties of stilbenoid-rich extracts by UVA-irradiation. *Industrial Crops & Products* 145: 112150.
- Walterson, A.M. & Stavrinos, J. 2015. *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae. *FEMS Microbiology Reviews* 39(6): 968–984. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv027>
- Wdowiak-Wróbel, S., Kalita, M., Palusińska-Szys, M., Marek-Kozaczuk, M., Sokołowski W. & Coutinho, T.A. 2024. *Pantoea trifolii* sp. nov., a novel bacterium isolated from *Trifolium rubens* root nodules. *Scientific Reports* 14: 2698. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-53200-2>
- Whitfort, L.A. 1982. Investigations into the composition of epiphytic communities and their influence on the uptake of diquat by *Elodea canadensis* Rich. MSc. Thesis, University of New South Wales. CSIRO Division of Irrigation Research, Griffith, New South Wales, 132 pp.
- Wu, W., Wang, Z., Xu, B., Cai, J., Cheng, J., Mu, D., Wu X. & Li X. 2022. Exploring core microbiota based on characteristic flavor compounds in different fermentation phases of sufu. *Molecules* 27(15): 4933. doi: 10.3390/molecules27154933

- Yadav, N.K., Patel, A.B., Kashyap, S. Deepti, M., Savaliya, B.D., Singh, Y.R. & Sahu, A. 2025. Phytase as a functional feed additive in aquaculture: growth promotion, nutrient utilization, and environmental mitigation. *Aquaculture International* 33: 588. <https://doi.org/10.1007/s10499-025-02278-0>
- Yue, Z.Q. Xu, Y.Z., Wang, C., Liu, Q., Guo, G., Huo, W.J., Zhang, J., Chen, L., Pei, C.X., Zhang, Y.L. & Zhang, S.L. 2020. Effects of dietary laccase supplementation on growth performance, nutrient digestion, rumen fermentation and microbiota in dairy bulls. *Animal Feed Science and Technology* 269: 114645. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114645>
- Zhai, T., Wang, H., Dong, X., Wang, S., Xin, X., Du, J., Guan, Q., Jiao, H., Yang, W. & Dong, R. 2024. Laccase: A green biocatalyst offers immense potential for food industrial and biotechnological applications. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 72(44): 24158–24169. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c06669>
- Zhang, Q., Yang, J., Mou, L., Jiang, Y., Barriuso, J., Guo, F., Fengxue Xin, F. & Jiang, M. 2025. A comprehensive review on violacein production by microbial fermentation. *BioDesign Research* 7(3): 2693–1257. <https://doi.org/10.1016/j.bidere.2025.100043>.
- Zhao, C., Su, W., Mu, Y., Jiang, L. & Mu, Y. 2020. Correlations between microbiota with physicochemical properties and volatile flavor components in black glutinous rice wine fermentation. *Food Research International* 138: 109800.



**Löydät meidät
verkosta**

luke.fi



Luonnonvarakeskus (Luke) Latokartanonkaari 9, 00790 Helsinki