

Received: 06.09.2021 / Accepted: 27.10.2021

ARTYKUŁ PRZEGLĄDOWY

## Możliwości wykorzystania drożdży w biologicznej ochronie roślin

### Possibilities of using yeast in biological plant protection

Kinga Mazurkiewicz-Zapałowicz<sup>A,1\*</sup>, Roxana Ryplewska<sup>1</sup>, Anna Biedunkiewicz<sup>B,2</sup>, Łukasz Łopusiewicz<sup>C,3</sup>,  
Hanna Gawińska-Urbanowicz<sup>4</sup>, Joanna Krzywińska<sup>D,5</sup>

#### Streszczenie

Aktywność metaboliczna drożdży, a także ich powszechne występowanie w środowisku, czyni z nich potencjalne czynniki, które mogą znaleźć zastosowanie w biologicznej ochronie roślin. W artykule przedstawiono prozdrowotne działanie drożdży na rośliny. Działanie prozdrowotne drożdży związane jest ze zdolnością dostarczania roślinom rozpuszczonych składników odżywczych. Drożdże mogą również pośrednio aktywować mechanizmy obronne roślin i poprawiać ich zdrowotność. Szczególną rolę odgrywają tu właściwości bioremediacyjne i antagonizm drożdży wobec wielu ważnych gospodarczo fitopatogenów. Badania wskazują również, że drożdże (*Pichia membranifaciens*, *Pichia fermentans* i *Meyerozyma guilliermondii*) w warunkach *in vitro* wykazują antagonistyczne oddziaływanie na fitopatogeny (*Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani* i *Colletotrichum coccodes*). Wyżej wymienione mechanizmy działania drożdży mogą być wykorzystane do tworzenia wysokiej jakości bionawozów i biopestycydów.

**Słowa kluczowe:** drożdże, mechanizm działania, biopestycydy

#### Abstract

The metabolic activity of yeasts, as well as their common occurrence in the environment make them a potential source of compounds that can be used in biological plant protection. The article presents health-promoting effects of yeast on plants. The pro-health effect of yeast is related to the ability to provide plants with dissolved nutrients. Yeasts can also indirectly activate plant defence mechanisms and improve plant health status. The bioremediation properties and antagonism of yeasts against numerous economically important phytopathogens play an important role here. The research is also indicated that yeasts (*Pichia membranifaciens*, *Pichia fermentans* and *Meyerozyma guilliermondii*) *in vitro* show an antagonistic activity against their phytopathogens (*Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani* and *Colletotrichum coccodes*). All the mentioned aspects of yeast activity can be useful in creating high-quality biofertilizers and biopesticides.

**Key words:** yeasts, action mechanism, biopesticides

<sup>1</sup>Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa  
Królewicza 4, 71-550 Szczecin

<sup>2</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie  
Wydział Biologii i Biotechnologii  
Oczapowskiego 1A, 10-719 Olsztyn

<sup>3</sup>Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa  
Janickiego 35, 71-270 Szczecin

<sup>4</sup>Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Boninie  
Bonin 3, 76-005 Bonin

<sup>5</sup>Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy  
Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań

\*corresponding author: kmazurkiewicz@zut.edu.pl

ORCID: <sup>A</sup>0000-0002-3951-504X, <sup>B</sup>0000-0003-3498-7432, <sup>C</sup>0000-0001-9499-8366, <sup>D</sup>0000-0002-6257-9850

## Wstęp / Introduction

Skuteczna i bezpieczna ochrona roślin jest wyzwaniem współczesnego rolnictwa. Metody chemiczne stosowane w ochronie roślin, wykazują bardzo dużą skuteczność w zapobieganiu i zwalczaniu agrofagów, co zapewnia maksymalizację zysków. Chemiczne środki ochrony roślin stosowane są chętnie, lecz nie zawsze w sposób kontrolowany. Działania te obciążone są szeregiem trudnych do przewidzenia zagrożeń m.in. związanych z narastającą opornością patogenów na substancje czynne środków ochrony roślin. Konsekwencją tego jest coraz mniejsza skuteczność prewencyjna lub interwencyjna pestycydów. Nasila to poszukiwania nowych środków ochrony roślin, co wymaga przeprowadzenia kosztownych procedur, związanych z ich wprowadzeniem na rynek, m.in. na etapie rejestracji NDP (Najwyższego Dopuszczalnego Poziomu), który określa bezpieczne poziomy pozostałości pestycydów w produktach spożywczych. Przekroczenie NDP jest obligatoryjnie ogłaszane przez system RASFF (ang. Rapid Alert System for Food and Feed), czyli System Wczesnego Ostrzegania o Niebezpiecznej Żywności i Paszach (Słowik-Borowiec i wsp. 2012; Nowacka i Hołodyńska-Kulas 2020). Wymienione konsekwencje stosowania chemicznych środków ochrony roślin, to jedynie „czubek góry lodowej” globalnego problemu, związanego z zaleganiem i kumulacją substancji czynnych pestycydów w środowisku wodnym (Lew i wsp. 2013) i w glebie (Forouzangohar i wsp. 2005). Związki te czasowo lub trwale zmieniają funkcjonowanie ekosystemów, zaburzając zwłaszcza interakcje między żyjącymi w nich organizmami. W celu maksymalnej ochrony homeostazy agroekosystemów, dla dobra przedsiębiorców, konsumentów oraz środowiska, najbardziej optymalnym sposobem na ochronę roślin wydaje się metoda, która polega na wykorzystaniu przede wszystkim dostępnych metod ochrony, a w szczególności metod niechemicznych, wśród których wiodącą i najbardziej bezpieczną jest biologiczna ochrona roślin (Sosnowska 2018). Intensywne badania nad czynnikami biokontroli trwają ponad pół wieku i doprowadziły do komercyjnego wykorzystania zarejestrowanych czynników biologicznych w celu kontroli agrofagów. Dotychczas z powodzeniem jako biologiczne czynniki wchodzące w skład biopreparatów w ochronie roślin, poza makroorganizmami (drapieżne roztocza i owady, pasożytniki) oraz substancjami pochodzenia roślinnego i zwierzęcego (ekstrakty, aktywne molekuly), semizwiązkami (feromony, allomony, kairomony) wykorzystuje się przede wszystkim mikroorganizmy (wirusy, bakterie, grzyby, pierwotniaki) oraz produkty ich metabolizmu (Tomalak 2010; Sosnowska 2013, 2019; Kvakkestad i wsp. 2020; Pan i wsp. 2020; Holtappels i wsp. 2021). Wśród grzybów bezsporna jest aktywność metaboliczna licznych gatunków drożdży, a ich wszechobecność w środowisku, w tym w agroekosystemach sprawia, że również one wchodzą w interakcje z innymi mikroorganizmami, przez co mogą wpływać na redukcję liczebności fitopatogenów

w środowisku (Freimoser i wsp. 2019; Hernández-Fernández i wsp. 2021). Dotychczas udowodniono, że liczne gatunki drożdży, szczególnie z rodzajów: *Rhodosporidium*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Aureobasidium*, *Metschnikowia* czy *Pichia* ograniczają rozwój, przede wszystkim takich fitopatogenów, jak: *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Rhizopus stolonifer*, *Monilinia laxa* i *Monilinia fructigena* (Kordowska-Wiater 2011; Hernández-Fernández i wsp. 2021). Podobnych danych w odniesieniu do innych polifagicznych grzybów fitopatogenicznych brak, bądź są one bardzo fragmentaryczne. Stąd konieczność podjęcia badań w zakresie oddziaływań indywidualnych: gatunek fitopatogenu – gatunek grzyba drożdżoidalnego. Obecnie drożdże są grupą mikroorganizmów stanowiących bardzo atrakcyjny obiekt badań na świecie (Freimoser i wsp. 2019; Hernández-Fernández i wsp. 2021) ze względu na łatwość ich hodowli oraz możliwości pozyskiwania metabolitów (Janisiewicz i Korsten 2002) o potencjalnym działaniu fungistatycznym lub/i fungicydalnym. Pozwala to na wyselekcjonowanie takich gatunków drożdży, które potencjalnie spełniają warunki stawiane biofungicydom. W badaniach własnych przetestowano oddziaływanie wybranych gatunków drożdży: *Pichia fermentans* (18.T.VII/1), *Pichia membranifaciens* (18.T.VII/4), *Issatchenkia orientalis* (18.T.VIII/2) i *Meyerozyma quillermondii* (18.T.VIII/1), względem polifagicznych grzybów fitopatogenicznych, takich jak: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Colletotrichum coccodes* (Walk.) S. Hughes, *Fusarium oxysporum* Schltdl. czy *Rhizoctonia solani* J.G. Kuhn i oceniono perspektywy ich wykorzystania w biologicznej ochronie roślin na tle przykładów znanych z bibliografii.

## Występowanie drożdży / Yeasts occurrence

Drożdże to grupa grzybów silnie zróżnicowanych filogenetycznie oraz fenotypowo. Występują one kosmopolitycznie w wielu środowiskach glebowych i wodnych, i są także powszechnie wykorzystane w przemyśle spożywczym, w produkcji chleba, wina, piwa, oraz w innych procesach fermentacyjnych. Gatunki wybrane do badań własnych, takie jak: *P. fermentans* i *I. orientalis* występują na rozkładających się liściach, kwiatach, owocach, ziarnach zbóż oraz produktach o wysokiej zawartości cukru (Maserti i wsp. 2015; Kačániová i wsp. 2020). *Issatchenkia orientalis* izolowano także z ubogich w węglowodany ziaren kakaowca poddanych fermentacji, co nadaje tym produktom specyficzny smak (Bajaj i wsp. 2013). *Pichia membranifaciens* jest jednym z gatunków drożdży występujących w czasie przetwarzania produktów roślinnych. Wyróżnia go wysoka aktywność oksydacyjna na powierzchni wina, związana z wytwarzaniem kwasów organicznych, aldehydu octowego, octanu etylu i octanu izoamylu, co istotnie pogarsza właściwości organoleptyczne moszczu winogronowego (Kurtzman i wsp. 2011). W odróżnieniu od innych gatunków drożdży rodzaju *Pichia*, dla których optymalna kwasowość do roz-

woju mieści się pomiędzy pH 4,5–5,0, *P. membranifaciens* preferuje rozwój przy bardzo niskim pH (1,4–1,7) (Janisiewicz i Korsten 2002). Grzyb ten jest także dobrze znanym halofilem i optimum wzrostu wykazuje w 3 M stężeniu NaCl (Naumov i Naumova 2009). Szczepy *P. membranifaciens* są najbardziej znane z tworzenia biofilmów w różnych produktach alkoholowych. Drożdże te tolerują wyższe stężenia etanolu (11%), przez co są często obecne w gorzelnianach i biorą udział we wszystkich etapach procesu fermentacji. Fermentację zaburza również *Meyerozyma guilliermondii* z uwagi na produkcję octanu etylu w ilościach zmieniających właściwości organoleptyczne wina. Z drugiej strony *M. guilliermondii* wykazuje zdolność do produkcji arabitolu, który może być stosowany w przemyśle spożywczym jako środek słodzący przeznaczony dla diabetyków, ponieważ cechuje się niską kalorycznością i dobrą tolerancją przez konsumentów (Kordowska-Wiater 2015). Ponadto *M. guilliermondii* izolowano z wiązek przewodzących roślin *Ulmus americana*, *Abies balsamea* i *Picea excelsa* (Kurtzman i wsp. 2011).

### Drożdże w biologicznej ochronie roślin / Yeasts in biological crop protection

Wszechobecność drożdży na roślinach uprawnych w czasie wegetacji i po zbiorze oraz na surowcach z nich pozyskiwanych sprawia, że mikroorganizmy te są coraz częściej wykorzystywane w rolnictwie, zwłaszcza ekologicznym, gdzie stanowią alternatywę w stosunku do chemicznej ochrony roślin. Drożdże występujące na powierzchni liści nie muszą wywoływać symptomów chorobowych (Biedunkiewicz i wsp. 2020), ale tworząc barierę ochronną, ograniczają adhezję innych mikrogrzybów, w tym fitopatogenów. Jako naturalny komponent mikrobiologiczny biofilmu liści, korzeni lub innych części roślin (Chanchaichaovivat i wsp. 2007) współtworzą one niszę ekologiczną o skomplikowanej sieci powiązań i interakcji międzygatunkowych, często o podłożu antagonistycznym, co może być wykorzystane w biologicznej ochronie roślin, zwłaszcza że drożdże zwykle nie wytwarzają toksycznych metabolitów wtórnych (Greibenisan i wsp. 2006; Liu i wsp. 2013). Prowadzone w tym zakresie badania screeningowe zmierzają do poznania jak najliczniejszej grupy gatunków i szczepów drożdży, które mogłyby spełniać kryteria umożliwiające ich wykorzystanie w biofungicydach (tab. 1).

### Mechanizmy antagonistycznego oddziaływania drożdży na fitopatogeny / Mechanisms of the antagonistic effect of yeasts on phytopathogens

Mechanizmy bezpośredniego oddziaływania drożdży na rośliny uprawne polegają na zdolności dostarczania roślinom rozpuszczalnych składników odżywczych, produkcji

kwasów organicznych czy fitohormonów (kwas indolo-3-octowy). Natomiast mechanizmy pośredniego oddziaływania polegają na zdolności tych mikroorganizmów do wysokiej aktywności przeciwrzybiczej i przeciwbakteryjnej, ograniczającej rozwój fitopatogenów. W tym aspekcie ich działanie opiera się przede wszystkim na: (i) konkurencji o przestrzeń życiową oraz składniki pokarmowe, (ii) mykoparazytyzmie, (iii) produkcji metabolitów o charakterze antygrzybowym, (iiii) indukowaniu mechanizmów odporności u roślin. U większości gatunków drożdży wymienione formy aktywności występują jednak jednocześnie, a ich częste synergistyczne działanie wzmacnia efekt antagonizmu wobec fitopatogenów (Grzegorzczuk i wsp. 2015; Hernández-Fernández i wsp. 2021).

### Konkurencja o przestrzeń życiową oraz składniki pokarmowe / Competition for living space and nutrients

Konkurencyjne oddziaływanie drożdży potencjalnie zmniejsza niszę życiową fitopatogenów i ich rozwój. Taki mechanizm działania zaobserwowano względem: *B. cinerea*, *P. expansum*, *R. stolonifer* oraz *Aspergillus niger* w obecności drożdży: *Aureobasidium pullulans*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Debaryomyces hansenii* czy *Pichia caribbica* (syn: *Meyerozyma caribbica*) (Grzegorzczuk i wsp. 2015). Skuteczność ochronnego działania komórek drożdży *Cryptococcus albidus* w zwalczaniu szarej pleśni stwierdzono również podczas przechowywania owoców truskawki w chłodni (Kowalska i wsp. 2012). Natomiast w temperaturze 20 i 26°C, w badaniach przeprowadzonych przez Perka i wsp. (2013) wykazano, że drożdże *Candida albicans* istotnie hamują wzrost wielu polifagicznych grzybów z rodzaju *Fusarium*. W badaniach własnych takiego działania inhibicyjnego nie stwierdzono w kontakcie *Fusarium oxysporum* z żadnym z testowanych gatunków drożdży. Wykazano jednak zahamowanie rozwoju *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani* i *Colletotrichum coccodes* w obecności *P. membranifaciens* (fot. 1) oraz *A. alternata* i *C. coccodes* w obecności *P. fermentans* (fot. 2), a także *M. guilliermondii* (fot. 3). Wskazuje to na większe znaczenie tych gatunków drożdży w biologicznej ochronie roślin, co jednak wymaga dalszych badań *in vitro* i *in vivo*.

Drożdże ze względu na zdolność do szybkiego wzrostu, kolonizują powierzchnie roślin uprawnych, zwłaszcza w miejscach zranień, tworząc ochronny biofilm pokrywający powierzchnię rany, najczęściej na owocach (Klein i Kupper 2018). Zdolność ta jest korzystna, ponieważ w strefie ran roślina jest najbardziej podatna na porażenie przez patogeny, które korzystają z dostępu do uwolnionych substratów pokarmowych. Ochronna rola drożdży, w miejscach szczególnie wrażliwych, polega na wyczerpaniu przez te mikroorganizmy składników odżywczych do

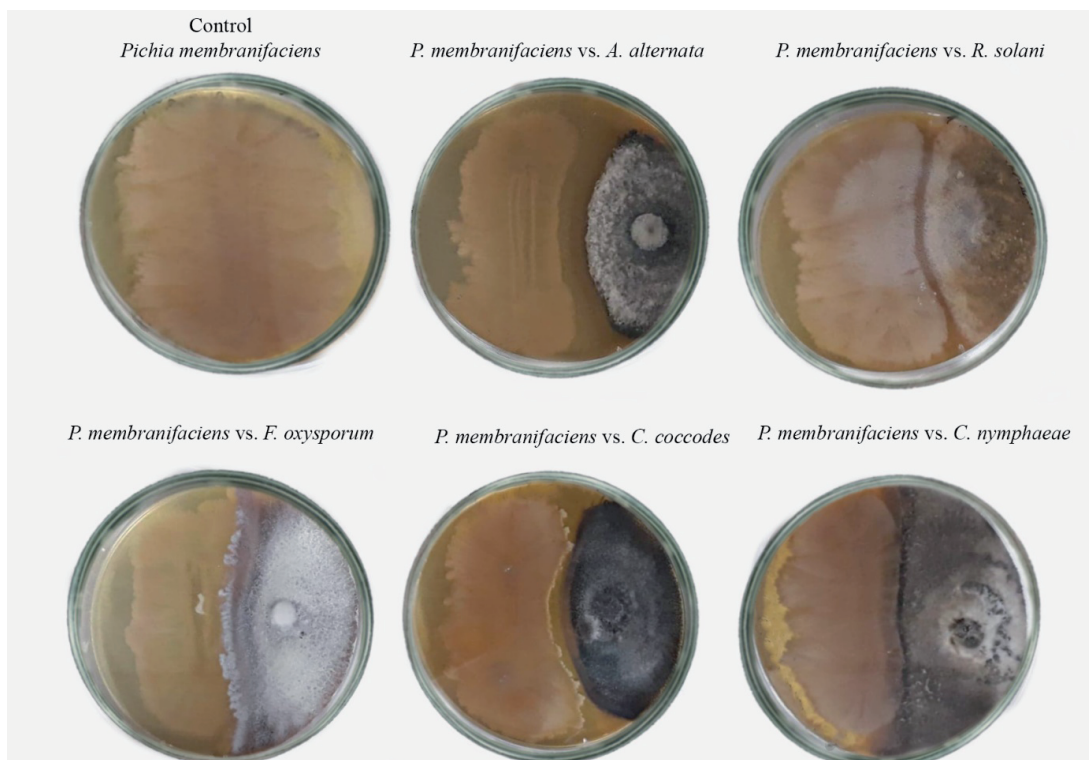
**Tabela 1.** Wybrane preparaty oparte o antagonisticzne drożdże wykorzystane w biologicznej ochronie roślin (Droby i wsp. 2002; Kordowska-Wiater 2011; Sosnowska 2019; Bryk i Broniarek-Niemiec 2021)**Table 1.** Selected preparations based on antagonistic yeast used in biological plant protection (Droby et al. 2002; Kordowska-Wiater 2011; Sosnowska 2019; Bryk and Broniarek-Niemiec 2021)

Preparat Preparation	Gatunek drożdży Yeast species	Fitopatogen Phytopathogen	Roślina Plant
AspireTM*	<i>Candida oleophila</i> Montrocher 1967	<i>Penicillium</i> spp., <i>Botrytis</i> sp., <i>Geotrichum</i>	przed zbiorami w czasie wegetacji: na plantacjach pomidorów, winorośli i truskawki oraz w czasie przechowywania owoców jabłoni i gruszy before harvesting during vegetation: in tomato, grape and strawberry plantations and during storage of apple and pear fruit
Nexy	<i>Candida oleophila</i> Montrocher 1967	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Penicillium expansum</i>	po zbiorach owoców jabłoni i gruszy do zwalczania szarej pleśni i niebieskiej pleśni after harvesting apple and pear fruit to limit gray mold and blue mold
BoniProtect	kiełkujące komórki <i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud 1918 szczepy: DSM 14940 i 14941 germinating cells of <i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud 1918 strains: DSM 14940 and 14941	<i>Pezicula</i> sp., <i>Nectria</i> sp., <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Monilinia fructigena</i> , <i>Penicillium expansum</i>	zapobiegawczo w zwalczaniu chorób grzybowych w sadach oraz na jabłoniach i gruszkach od fazy początku dojrzewania owoców, w ciągu 5 ostatnich tygodni przed zbiorem w celu zahamowania rozwoju chorób przechowalniczych preventive in combating fungal diseases in orchards and on apple and pear trees from the beginning of fruit ripening, during the last 5 weeks before harvest in order to inhibit the development of storage diseases
Blossom Protect	<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary & Löwenthal) szczepy: DSM 14940 i 14941 strains: DSM 14940 and 14941	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Monilia fructigena</i>	choroby przechowalnicze owoców fruit storage diseases
Blossom Protect	<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary & Löwenthal) szczepy: DSM 14940 i 14941 strains: DSM 14940 and 14941	<i>Erwinia amylovora</i>	zapobiegawczo w okresie kwitnienia jabłoni, gruszy i pigwy preventively during the flowering of apple, pear and quince trees
Botector	<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary & Löwenthal) szczepy: DSM 14940 i 14941 strains: DSM 14940 and 14941	<i>Botrytis cinerea</i>	winorośl (uprawa polowa), truskawka, jeżyna, malina, morwa, borówka, żurawina, porzeczkoagrest, rokitnik, bez czarny, agrest, porzeczka czarna i kolorowa, jarząb, głóg, róża (uprawa polowa i pod osłonami) grapevines (field cultivation), strawberry, blackberry, raspberry, mulberry, blueberry, cranberry, currant agrest, sea buckthorn, elderberry, gooseberry, currant black and colored, rowan, hawthorn, rose (field and sheltered cultivation)
Julietta	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> szczep LAS02 strain LAS02	<i>Botrytis cinerea</i>	truskawka, porzeczka, malina, jeżyna, borówka, aronia (uprawa pod osłonami) strawberry, currant, raspberry, blackberry, blueberry, chokeberry (cultivation under covers)

\*brak w ostatnim rejestrze (Bryk i Broniarek-Niemiec 2021) – not in the last register (Bryk and Broniarek-Niemiec 2021)

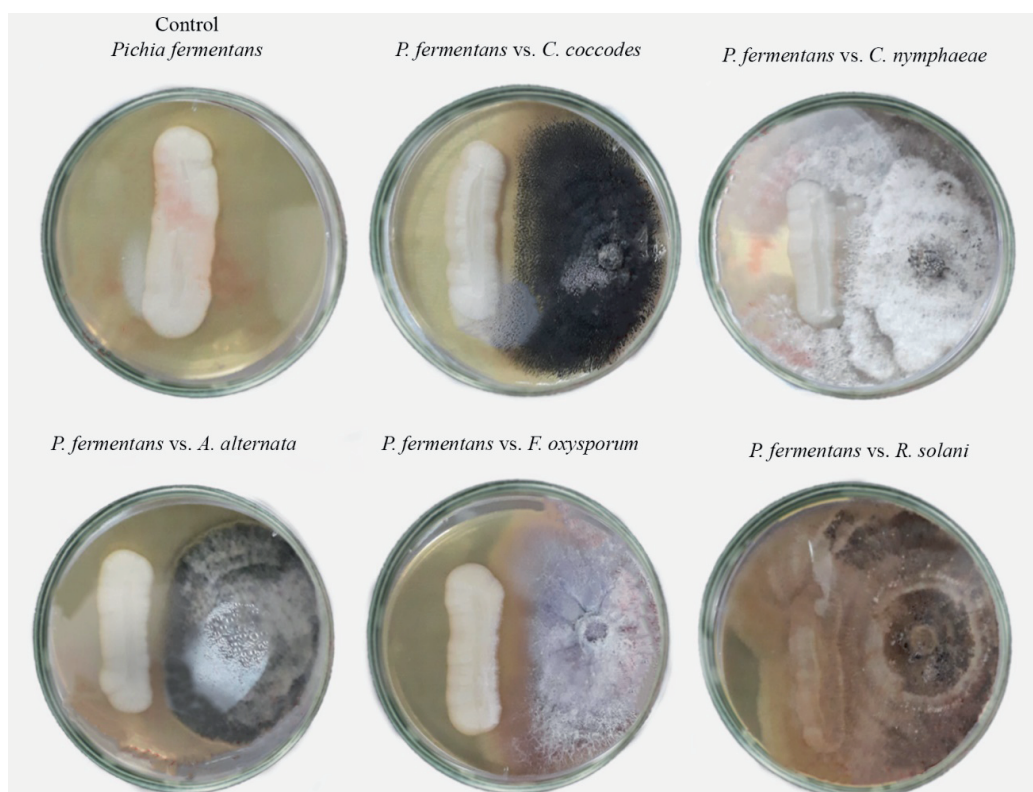
budowania własnej biomasy, co prowadzi do ograniczenia i zdominowania rozwoju patogenów pozbawionych źródła pokarmu (Bencheqroun i wsp. 2007). Ze względu na powszechność występowania drożdży w fylosferze może to mieć istotne znaczenie w praktyce, co potwierdza ograniczenie rozwoju *A. solani*, *R. stolonifer* oraz *B. cinerea* w obecności *Pichia guilliermondii* (syn: *M. guilliermondii*)

*in vivo*, udowodnione przez Zhao i wsp. (2008). Po aplikacji zawiesiny drożdży *M. guilliermondii* na owoce pomidora, zaobserwowano zmniejszenie występowania objawów chorób wywołanych przez wyżej wymienione fitopatogeny. Kolejnym gatunkiem drożdży o konkurencyjnym działaniu antagonistycznym jest *P. fermentans*, którego obecność hamuje rozwój brunatnej zgnilizny na jabłkach (*Monilinia*



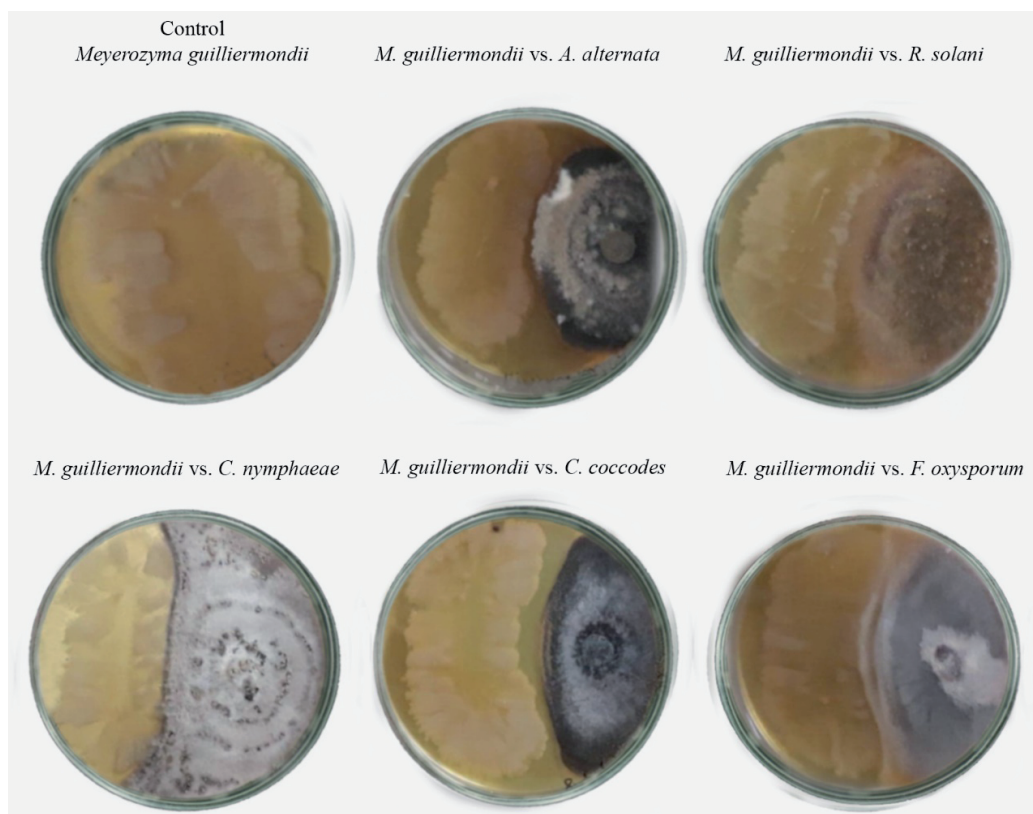
**Fot. 1.** Oddziaływanie drożdży *Pichia membranifaciens* na fitopatogeny *Alternaria alternata*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum nymphaeae*, *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani* *in vitro* (fot. R. Ryplewska)

**Photo 1.** *In vitro* influence of the yeast *Pichia membranifaciens* on phytopathogens *Alternaria alternata*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum nymphaeae*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* (photo R. Ryplewska)



**Fot. 2.** Oddziaływanie drożdży *Pichia fermentans* na fitopatogeny *Alternaria alternata*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum nymphaeae*, *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani* *in vitro* (fot. R. Ryplewska)

**Photo 2.** *In vitro* influence of the yeast *Pichia fermentans* on phytopathogens *Alternaria alternata*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum nymphaeae*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* (photo R. Ryplewska)



**Fot. 3.** Oddziaływanie drożdży *Meyerozyma guilliermondii* na fitopatogeny *Alternaria alternata*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum nymphaeae*, *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani* *in vitro* (fot. R. Ryplewska)

**Photo 3.** *In vitro* influence of the yeast *Meyerozyma guilliermondii* on phytopathogens *Alternaria alternata*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum nymphaeae*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* (photo R. Ryplewska)

*fructigena*) (Giobbe i wsp. 2007). Badania te wykazały, że po rozpyleniu na powierzchni owoców jabłoni, komórki *P. fermentans* utworzyły cienki ochronny biofilm. Zaskakujące, że po zaszczepieniu tymi drożdżami ran, jak i nieuszkodzonych powierzchni owoców brzoskwini, ten sam szczep wykazywał nieoczekiwane patogenne właściwości, powodując szybki rozkład mięszu brzoskwini, nawet pod nieobecność *M. fructigena*. Udowodniono, że na powierzchni zdrowych i zranionych jabłek, antagonist (P. fermentans) kolonizował tkanki owoców zachowując swój drożdżowy, swoisty charakter rozwoju. Natomiast w kolonizacji owoców brzoskwini rozwój *P. fermentans* przebiegał od pączkowania do fazy wzrostu związanego z wytwarzaniem pseudostrzępek. Wyniki te sugerują, że tworzenie pseudostrzępek może odgrywać istotną rolę w regulowaniu potencjalnej patogenności *P. fermentans*, co może stanowić ryzyko w bezpiecznym stosowaniu drożdżowych biofungicydów w ochronie roślin. W tym kontekście ważne jest poznanie biologii poszczególnych gatunków drożdży, etiologii wywoływanych przez nie chorób oraz warunków decydujących o bardzo zmiennej specyfice ich aktywności i rozwoju, co determinuje możliwości ich stosowania w ochronie roślin.

### Mykopasożytnictwo / Mycoparasitism

Skuteczność mykopasożytnictwa jest związana między innymi ze zdolnością adhezyjną drożdży antagonistycznych do ścian komórkowych grzybów fitopatogenicznych. W wyniku destrukcji ściany komórkowej fitopatogenicznych grzybów zahamowany zostaje ich wzrost (blokada inicjalnego stadium infekcji). Perforacja ścian komórkowych fitopatogenu zaburza morfologię grzybni oraz obniża jej turgor. Kluczowym elementem w tym mechanizmie jest działanie enzymów wytwarzanych przez drożdże (glukanazy, chitynazy, proteazy). Na ślazowcu pensylwańskim (*Sida hermaphrodita*), roślinie energetycznej uprawianej m.in. w Polsce, stwierdzono ograniczenie zachorowalności na zgniliznę wywołaną przez *Sclerotinia sclerotiorum* dzięki antagonistycznemu oddziaływaniu drożdży *Candida albida* (szczep 114/64) oraz *Pichia anomala* (szczep 117/10) (Remlein-Starosta i wsp. 2016). Antagonistyczne właściwości drożdży *P. anomala* (syn: *Wickerhamomyces anomalus*) i ich zdolność do zwiększonego wydzielania  $\beta$ -1,3-glukanazy w kontakcie ze ścianą komórkową *B. cinerea* zbadali także Kasfi i wsp. (2018). W warunkach *in vitro* obserwowali silniejsze działanie inhibicyjne oczyszczonego

enzymu na strzępki kielkowe niż na proces kiełkowania konidiów fitopatogenu. Produkcja  $\beta$ -1,3-glukanazy przez *P. membranifaciens* prowadzi do koagulacji protoplazmy komórek *B. cinerea* (Masih i Paul 2002). Taki mechanizm oddziaływania *P. membranifaciens* na *Monilinia fructicola*, *P. expansum* i *R. stolonifer* podczas przechowywania jabłek potwierdza Grzegorzczak i wsp. (2015), a w odniesieniu do *Hemileia vastatrix* (rdza kawowa) Melchor i wsp. (2018). W powyższych przypadkach obserwowano zahamowanie rozwoju procesu chorobowego na roślinach. Słuszność hipotezy o roli  $\beta$ -1,3-glukanazy w biokontroli potwierdza bowiem obecność tego enzymu na owocach jabłoni i roślin cytrusowych traktowanych drożdżami *P. anomala*, *Debaryomyces hansenii* czy *Hanseniaspora guilliermondii*. W tych przypadkach dochodziło do ograniczania wzrostu *Penicillium digitatum*, odpowiedzialnego za rozwój zielonej pleśni. Zdolność do produkcji  $\beta$ -1,3-glukanazy stwierdzono także u przedstawicieli innych gatunków drożdży: *Rhodotorula glutinis*, *Cryptococcus laurentii*, *Aureobasidium pullulans*, *Tilletiopsis albescens* i *Tilletiopsis pallescens*, *Candida guilliermondii* (anamorfa *M. guilliermondii*) i *Candida oleophila* (Kordowska-Wiater 2011), co potwierdza ich potencjał w biokontroli fitopatogenów. Zdolność do produkcji

$\beta$ -1,3-glukanazy należy zatem uważać za jedną z kluczowych aktywności predisponujących drożdże jako czynniki biokontroli. Ta sama grupa enzymów została stwierdzona u *Trichoderma viride*, grzyba strzępkowego powszechnie wykorzystanego w biologicznej ochronie roślin (Kumar i Ashraf 2017).

### Produkcja metabolitów o charakterze antygrzybowym / Production of antifungal metabolites

Przyszłością w biologicznej ochronie roślin są także szczepy drożdży killerowych dla komórek fitopatogenicznych grzybów strzępkowych, charakteryzujące się wydzielaniem toksyn o charakterze białkowym (tab. 2) (Belda i wsp. 2017). Proces produkcji toksyn killerowych został po raz pierwszy opisany u *Saccharomyces cerevisiae* (El-Banna i wsp. 2011), a obecnie zjawisko to odkryto już u prawie stu gatunków, należących do dwudziestu rodzajów drożdży. Dotychczas opisano ponad 11 różnych toksyn, które są produkowane przez przedstawicieli rodzajów *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Saccharomyces*, *Torulaspora* i *Williopsis* (Wang i wsp. 2012; Bajaj i wsp. 2013; Banjara

**Tabela 2.** Ważniejsze toksyny killerowe drożdży *Pichia* spp. (Belda i wsp. 2017)

**Table 2.** Killer toxins of *Pichia* spp. yeast (Belda et al. 2017)

Gatunek drożdży killerowych <i>Pichia</i> Killer <i>Pichia</i> species	Szczep (toksyna killerowa) Strain (killer toxin)	Mechanizm działania Mechanism of action
<i>P. acaciae</i> Van der Walt	NRRLY-18665 (PaT)	zatrzymanie cyklu komórkowego w G1, aktywność chitynazy cell cycle stopped in G1, chitinase activity
<i>P. anomala</i> (E.C. Hansen) Kurtzman	NCYC434 (Panomycocin)	hydroliza (1-3)- $\beta$ -D-glukanu – (1-3)- $\beta$ -D-glucan hydrolysis
	ATCC 96603/K36/UP25F (PaKT)	–
	DBVPG 3003 (Pikt)	–
	YF07b (-)	hydroliza (1-3)- $\beta$ -D-glukanu – (1-3)- $\beta$ -D-glucan hydrolysis
	VKM-Y (WAKTa/b)	–
<i>P. farinosa</i> (Lindner) Guillerm.	KK1 (SMKT)	permeabilizacja błony komórkowej – membrane permeabilization
<i>P. inositovora</i> Golubev & Blagod.	NRRL Y-18709 (-)	fragmentacja rRNA – rRNA fragmentation
<i>P. kluyveri</i> Bedford ex Kudryavtsev	1002 (-)	permeabilizacja błony komórkowej – membrane permeabilization
	DBVPG 5826 (Pkkp)	–
<i>P. kudriavzevii</i> Boidin, Pignal & Besson	RY55 (-)	–
<i>P. membranifaciens</i> (E.C. Hansen) E.C. Hansen	CYC 1106 (PMKT)	permeabilizacja błony komórkowej/apoptoza membrane permeabilization/apoptosis
	CYC 1086 (PMKT2)	zatrzymanie cyklu komórkowego/apoptoza cell cycle stopped/apoptosis
<i>P. ohmeri</i> (Etchells & T.A. Bell) Kreger-van Rij	158 (-)	utrata integralności błony komórkowej loss of cellular integrity

i wsp. 2016; Villalba i wsp. 2016, 2020; Belda i wsp. 2017). Do drożdży znanych z produkcji toksyn należy *P. membranifaciens*, wytwarzający toksyny PMKT i PMKT2 (Belda i wsp. 2017), skuteczne w ograniczaniu rozwoju *Candida boidinii*, *B. cinerea* czy *Bretanomyces bruxellensis* (Santos i Marquina 2004). Toksyny killerowe powodują perforacje ściany patogenu poprzez rozkład  $\beta$ -1,3-D-glukanów,  $\beta$ -1,6-D-glukanów, mannoproteiny i chityny, czyli podstawowych związków budulcowych ściany komórkowej grzybów patogenicznych (Mannazzu i wsp. 2019). W konsekwencji prowadzi to do wycieku zawartości cytoplazmy komórkowej na zewnątrz i nieuchronnej śmierci komórki fitopatogenu. Produkowane toksyny nie są specyficzne i każdy element ściany komórkowej może stać się ich miejscem docelowego działania. Produkcja rodzaju białek toksyn killerowych zależy od szczepu drożdży oraz pH środowiska. Toksyny produkowane przez *P. anomala* są termostabilne i pozostają niezmiennie w szerokim zakresie pH (4,5–7), natomiast inne gatunki tego rodzaju np. *Pichia kluyveri* cechują się mniejszą tolerancją na zmiany kwasowości i warunków termicznych środowiska, co wpływa na spadek ich aktywności nawet o 70% (Chen i Chou 2017; de Ullivarri i wsp. 2018).

Wśród związków toksycznych wytwarzanych przez drożdże na uwagę zasługują ciekawe, choć słabo poznane lotne związki organiczne – LZO (VOCs) (Mari i wsp. 2016). Ich toksyczność stwierdzono w odniesieniu do *B. cinerea* w kontakcie z drożdżami *Hanseniaspora* (Ruiz-Moyano i wsp. 2020) i *A. pullulans* (Di Francesco i wsp. 2020). Zahamowanie rozwoju fitopatogenów przez drożdże może być także związane z możliwością sekwestracji (wyłapywania) niektórych pierwiastków i związków przez drożdże, np. sekwestracja żelaza przez pulcheriminę wytwarzaną przez *Metschnikowia pulcherrima* (Cordero-Bueso i wsp. 2017; Gore-Lloyd i wsp. 2019) lub przez siderofory wytwarzane przez *Rhodotorula glutinis* (Ferramola i wsp. 2013), które utrudniają kiełkowanie i wzrost grzybów wrażliwych na deficyt żelaza w podłożu (Spadaro i Droby 2016).

### Inne perspektywy wykorzystania drożdży w biologicznej ochronie roślin / Other perspectives for the use of yeast in biological plant protection

Znane są także możliwości zastosowania drożdży jako stymulatorów wzrostu, co znacznie poprawia kondycję zdrowotną roślin żywicielskich i tym samym sprawia, że są one bardziej odporne na działanie fitopatogenów. Drożdże mogą działać jako elicytory, czyli naturalne substancje, stymulujące odporność roślin, poprzez pobudzanie ich do syntezy licznych związków biologicznie czynnych. Drożdże (*Saccharomyces album*, *Candida utilis*), obok innych mikroorganizmów (bakterie mlekowe: *Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*; bakterie fotosyntetyzujące: *Rhodospseudomonas palustris*, *Rhodobacter spae*; promieniowce: *Streptomyces album*, *Streptomyces griseus* oraz Hyphomycetes i Zy-

gomycetes: *Aspergillus oryzae* i *Mucor hiemalis*) wchodzi w skład preparatów EM (Efektywnych Mikroorganizmów) (Janas 2009; Paśmionka i Kotarba 2015). Preparaty te oparte są na niemodyfikowanych genetycznie mikroorganizmach, stanowiących asortyment do produkcji bionawozów naturalnych i organicznych, poprawiających warunki środowiska. Preparaty EM nie są wprawdzie „złotym środkiem” w walce z fitopatogenami, ale poprzez ich zastosowanie można odtworzyć m.in. strukturę gruzelkową gleby, udostępnić/odblokować niedostępne dla roślin makro- i mikroelementy, przyspieszyć humifikację masy organicznej znajdującej się w glebie, wzmocnić naturalną odporność roślin, eliminować patogeny i szkodniki, neutralizować skutki suszy oraz optymalizować stosunek węgla do azotu (Górski i wsp. 2017). Aplikacja dolistna drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, w formie oprysku podczas wegetacji roślin, powoduje konkurencję z innymi grzybami o składniki pokarmowe. Produkt przemiany materii wytwarzany przez drożdże – alkohol etylowy, jako substancja o silnym działaniu grzybobójczym i bakteriobójczym (Woźniak i wsp. 2015), dodatkowo może hamować rozwój mikroorganizmów patogenicznych i ograniczać porażenie roślin uprawnych.

Kolejną możliwością wykorzystania drożdży w ochronie roślin jest ich udział w strategii mikrobiologicznej eliminacji licznych związków toksycznych, nagromadzonych w środowisku (Singh i Singh 2016). Poznano możliwości degradacji fosforoorganicznego chloropiryfosu przez *Rhodotorula glutinis* i *Rhodotorula rubra* (Bempelou i wsp. 2018) oraz insektycydów neonikotynoidowych i tiachloprydu przez *Rhodotorula mucilaginoso* (Dai i wsp. 2010). Otwiera to szanse wykorzystania drożdży w bioremediacji, co jest szczególnie istotne w świetle zagrożenia stwarzanego pszczołom przez insektycydy.

W ostatnich latach rośnie też liczba badań, w których testuje się możliwość redukcji populacji szkodników przez niektóre zmodyfikowane genetycznie szczepy drożdży *M. pulcherrima*, *Cryptococcus tephrensensis* czy *A. pullulans* (Murphy i wsp. 2016; Zhang i wsp. 2017) w połączeniu z granulowirusem, co zwiększa śmiertelność larw i gwarantuje lepszą ochronę jabłoni przed inwazją owocówki jabłkowieczki *Cydia pomonella* (Knight i Witzgall 2013). Ostatnie badania wykazały, że zmodyfikowane drożdże mogą wytwarzać składniki lub prekursorzy feromonów. Fermentacja zmodyfikowanych drożdży *Yarrowia lipolytica* wytwarza feromon płciowy słonecznicy orzechówki *Helicoverpa armigera*, co skutecznie eliminuje tego szkodnika w doświadczeniach polowych na bawełnie, pomidorze i kukurydzy (Holkenbrink i wsp. 2020).

### Podsumowanie / Summary

Dostępne piśmiennictwo potwierdza wysoką aktywność biochemiczną drożdży zarówno w doświadczeniach *in vitro*, jak i w ekosystemach, co sprzyja wzrostowi zainteresowania



tymi mikroorganizmami jako składnikami bionawozów oraz biostymulatorów. Antagonistyczne oddziaływanie drożdży na fitopatogeny grzybowe ma wielopoziomowe działanie, co potwierdza złożoność fizjologiczno-biochemiczną interakcji: gatunek drożdży – gatunek fitopatogenu. Niewątpliwie jednym z podstawowych elementów prowadzonych obecnie prac jest konieczność nieustannego ich skierowania na badania screeningowe, które wzbogacą spektrum pozna-

wanych gatunków drożdży o potencjalnych możliwościach pośredniego i bezpośredniego oddziaływania na fitopatogeny. Istnieje potrzeba rozwiązania jeszcze wielu problemów, których wyjaśnienie umożliwi wprowadzenie i upowszechnienie zastosowania drożdży w biologicznej ochronie roślin. W tym celu konieczna jest kontynuacja badań interdyscyplinarnych, mykologicznych, fizjologicznych, a także ekologicznych.

## Literatura / References

- Babaj B.K., Raina S., Singh S. 2013. Killer toxin from a novel killer yeast *Pichia kudriavzevii* RY55 with idiosyncratic antibacterial activity. *Journal of Basic Microbiology* 53 (8): 645–656. DOI: 10.1002/jobm.201200187
- Banjara N., Nickerson K.W., Suhr M.J., Hallen-Adams H.E. 2016. Killer toxin from several food-derived *Debaryomyces hansenii* strains effective against pathogenic *Candida* yeasts. *International Journal of Food Microbiology* 222: 23–29. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.016
- Belda I., Ruiz J., Alonso A., Marquina D., Santos A. 2017. The biology of *Pichia membranifaciens* killer toxins. *Toxins* 9 (4): 112. DOI: 10.3390/toxins9040112
- Bempelou E.D., Vontas J.G., Liapis K.S., Ziogas V.N. 2018. Biodegradation of chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by the epiphytic yeasts *Rhodotorula glutinis* and *Rhodotorula rubra*. *Ecotoxicology* 27 (10): 1368–1378. DOI: 10.1007/s10646-018-1992-7
- Bencheqroun S.K., Bajji M., Massart S., Labhilili M., El Jaafari S., Jijakli M.H. 2007. *In vitro* and *in situ* study of postharvest apple blue mould biocontrol by *Aureobasidium pullulans*: Evidence for the involvement of competition for nutrients. *Postharvest Biology and Technology* 46 (2): 128–135. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2007.05.005
- Biedunkiewicz A., Sucharzewska E., Kulesza K., Nowacka K., Kubiak D. 2020. Phyllosphere of submerged plants in bathing lakes as a reservoir of fungi - potential human pathogens. *Microbial Ecology* 79 (3): 552–561. DOI: 10.1007/s00248-019-01447-y
- Bryk H., Broniarek-Niemiec A. 2021. Wykaz fungicydów i bakteriocydów rekomendowanych do integrowanej produkcji roślin w uprawach sadowniczych. INHort, Skierniewice, 28 ss.
- Chanchaichaovivat A., Ruenwongsa P., Panijpan B. 2007. Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: Potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotrichum capsici*). *Biological Control* 42 (3): 326–335. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2007.05.016
- Chen P.-H., Chou J.-Y. 2017. Screening and identification of yeasts antagonistic to pathogenic fungi show a narrow optimal pH range for antagonistic activity. *Polish Journal of Microbiology* 66 (1): 101–106. DOI: 10.5604/17331331.1234997
- Cordero-Bueso G., Mangieri N., Maghradze D., Foschino R., Valdetara F., Cantoral J.M., Vigentini I. 2017. Wild grape-associated yeasts as promising biocontrol agents against *Vitis vinifera* fungal pathogens. *Frontiers in Microbiology* 8: 2025. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02025
- Dai Y.-J., Ji W.-W., Chen T., Zhang W.-J., Liu Z.-H., Ge F., Sheng Y. 2010. Metabolism of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and thiacloprid by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* strain IM-2. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (4): 2419–2425. DOI: 10.1021/jf903787s
- de Ullivarri M.F., Mendoza L.M., Raya R.R. 2018. Characterization of the killer toxin KTCf20 from *Wickerhamomyces anomalus*, a potential biocontrol agent against wine spoilage yeasts. *Biological Control* 121: 223–228. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2018.03.008
- Di Francesco A., Zajc J., Gunde-Cimerman N., Aprea E., Gasperi F., Placi N., Caruso F., Baraldi E. 2020. Bioactivity of volatile organic compounds by *Aureobasidium* species against gray mold of tomato and table grape. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 36: 171. DOI: 10.1007/s11274-020-02947-7
- Droby S., Vinokur V., Weiss B., Cohen L., Daus A., Goldschmidt E.E., Porat R. 2002. Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in grapefruit by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. *Phytopathology* 92 (4): 393–399. DOI: 10.1094/PHTO.2002.92.4.393
- El-Banna A.A., El-Sahn M.A., Shehata M.G. 2011. Yeasts producing killer toxins: An overview. *Alexandria Journal of Food Science and Technology* 8 (2): 41–53.
- Ferramola M.I.S., Benuzzi D., Calvente V., Calvo J., Sansone G., Cerutti S., Raba J. 2013. The use of siderophores for improving the control of postharvest diseases in stored fruits and vegetables. s. 1385–1394. W: *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education* (A. Méndez-Vilas, red.). Formatex Research Center, Badajoz, Spain.
- Forouzangohar M., Haghnia G.H., Koocheki A. 2005. Organic amendments to enhance atrazine and metatritron degradation in two contaminated soils with contrasting textures. *Soil and Sediment Contamination* 14 (4): 345–355. DOI: 10.1080/15320380590954060
- Freimoser F.M., Rueda-Mejia M.P., Tilocca B., Migheli Q. 2019. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 35: 154. DOI: 10.1007/s11274-019-2728-4
- Giobbe S., Marceddu S., Scherm B., Zara G., Mazzarello V.L., Budroni M., Migheli Q. 2007. The strange case of a biofilm-forming strain of *Pichia fermentans*, which controls *Monilinia* brown rot on apple but is pathogenic on peach fruit. *FEMS Yeast Research* 7 (8): 1389–1398. DOI: 10.1111/j.1567-1364.2007.00301.x

- Gore-Lloyd D., Sumann I., Brachmann A.O., Schneeberger K., Ortiz-Merino R.A., Moreno-Beltrán M., Schläfli M., Kirner P., Santos Kron A., Rueda-Mejia M.P., Somerville V., Wolfe K.H., Piel J., Ahrens C.H., Henk D., Freimoser F.M. 2019. Snf2 controls pulcherriminic acid biosynthesis and antifungal activity of the biocontrol yeast *Metschnikowia pulcherrima*. *Molecular Microbiology* 112 (1): 317–332. DOI: 10.1111/mmi.14272
- Górski R., Kleiber T., Sobieralski K. 2017. The influence of effective microorganisms application on the chemical composition in lettuce grown under cover. [Wpływ zastosowania efektywnych mikroorganizmów na skład chemiczny sałaty uprawianej pod osłonami]. *Ecological Chemistry and Engineering A* 24 (1): 113–121. DOI: 10.2428/ecea.2017.24(1)9
- Grebenisan I., Cornea P., Mateescu R., Cimpeanu C., Olteanu V., Campenu G., Stefan L.A., Oancea F., Lupu C. 2006. *Metschnikowia pulcherrima*, a new yeast with potential for biocontrol of postharvest fruit rots. *ISHS Acta Horticulturae* 767: XXVII International Horticultural Congress – IHC2006: International Symposium on Sustainability through Integrated and Organic Horticulture. Proceedings of the Acta Horticulturae. International Society for Horticultural Science, Seoul, Korea, August 13, 2006, 767: 355–360. DOI: 10.17660/ActaHortic.2008.767.38
- Grzegorzczak M., Szalewicz A., Żarowska B., Połomska X., Wątopek W., Wojtatowicz M. 2015. Drobnoustroje w biologicznej ochronie przed chorobami grzybowymi. [Microorganisms in biological control of phytopathogenic fungi]. *Acta Scientiarum Polonorum, Biotechnologia* 14 (2): 19–42.
- Hernández-Fernández M., Cordero-Bueso G., Ruiz-Muñoz M., Cantoral J.M. 2021. Culturable yeasts as biofertilizers and biopesticides for a sustainable agriculture: A comprehensive review. *Plants* 10 (5): 822. DOI: 10.3390/plants10050822
- Holkenbrink C., Ding B.J., Wang H.L., Dam M.I., Petkevicius K., Kildegaard K.R., Wenning L., Sinkwitz C., Lorántfy B., Koutsoumpeli E., França L., Pires M., Bernardi C., Urrutia W., Mafra-Neto A., Ferreira B.S., Raptopoulos D., Konstantopoulou M., Löfstedt C., Borodina I. 2020. Production of moth sex pheromones for pest control by yeast fermentation. *Metabolic Engineering* 62: 312–321. DOI: 10.1016/j.ymben.2020.10.001
- Holtappels D., Fortuna K., Lavigne R., Wagemans J. 2021. The future of phage biocontrol in integrated plant protection for sustainable crop production. *Current Opinion in Biotechnology* 68: 60–71. DOI: 10.1016/j.copbio.2020.08.016
- Janas R. 2009. Możliwości wykorzystania efektywnych mikroorganizmów w ekologicznych systemach produkcji roślin uprawnych. [Possibilities of using effective microorganisms in organic production systems of cultivated crops]. *Problemy Inżynierii Rolniczej* 17 (3): 111–119.
- Janisiewicz W.J., Korsten L. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annual Review of Phytopathology* 40 (24): 411–441. DOI: 10.1146/annurev.phyto.40.120401.130158
- Kačaniová M., Kunová S., Sabo J., Ivanišová E., Žiarovská J., Felsöciová S., Terentjeva M. 2020. Identification of yeasts with mass spectrometry during wine production. *Fermentation* 6 (1): 5. DOI: 10.3390/fermentation6010005
- Kasfi K., Taheri P., Jafarpour B., Tarighi S. 2018. Identification of epiphytic yeasts and bacteria with potential for biocontrol of grey mold disease on table grapes caused by *Botrytis cinerea*. *Spanish Journal of Agricultural Research* 16 (1): e1002. DOI: 10.5424/sjar/2018161-11378
- Klein M.N., Kupper K.C. 2018. Biofilm production by *Aureobasidium pullulans* improves biocontrol against sour rot in citrus. *Food Microbiology* 69: 1–10. DOI: 10.1016/j.fm.2017.07.008
- Knight A.L., Witzgall P. 2013. Combining mutualistic yeast and pathogenic virus - a novel method for codling moth control. *Journal of Chemical Ecology* 39 (7): 1019–1026. DOI: 10.1007/s10886-013-0322-z
- Kordowska-Wiater M. 2011. Drożdże jako czynniki ochrony biologicznej roślin. [Yeasts as biological control agents for plants]. *Postępy Mikrobiologii/Advances in Microbiology* 50 (2): 107–119.
- Kordowska-Wiater M. 2015. Production of arabinol by yeasts: current status and future prospects. *Journal of Applied Microbiology* 119 (2): 303–314. DOI: 10.1111/jam.12807
- Kowalska J., Drożdżyński D., Remlein-Starosta D., Sas L., Malusa E. 2012. Use of *Cryptococcus albidus* for controlling grey mould in the production and storage of organically grown strawberries. *Journal of Plant Diseases and Protection* 119 (5): 174–178. DOI: 10.1007/BF03356438
- Kumar M., Ashraf S. 2017. Role of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent of fungal plant pathogens. s. 497–506. W: *Probiotics and Plant Health* (V. Kumar, M. Kumar, S. Sharma, R. Prasad, red.). Springer, Singapore, 600 ss. DOI: 10.1007/978-981-10-3473-2\_23
- Kurtzman C., Fell J.W., Boekhout T. 2011. *The Yeasts: A Taxonomic Study*. Elsevier Science, 2354 ss. ISBN 978-04445-21-491.
- Kvakkestad V., Sundbye A., Gwynn R., Klingen I. 2020. Authorization of microbial plant protection products in the Scandinavian countries: A comparative analysis. *Environmental Science and Policy* 106 (2): 115–124. DOI: 10.1016/j.envsci.2020.01.017
- Lew S., Lew M., Biedunkiewicz A., Szarek J. 2013. Impact of pesticide contamination on aquatic microorganism populations in the littoral zone. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 64 (3): 399–409. DOI: 10.1007/s00244-012-9852-6
- Liu J., Sui Y., Wisniewski M., Drobny S., Liu Y. 2013. Review: Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *International Journal of Food Microbiology* 167 (2): 153–160. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.09.004
- Mannazzu I., Domizio P., Carboni G., Zara S., Zara G., Comitini F., Budroni M., Ciani M. 2019. Yeast killer toxins: from ecological significance to application. *Critical Reviews in Biotechnology* 39 (5): 603–617. DOI: 10.1080/07388551.2019.1601679
- Mari M., Bautista-Baños S., Sivakumar D. 2016. Decay control in the postharvest system: Role of microbial and plant volatile organic compounds. *Postharvest Biology and Technology* 122: 70–81. DOI: 10.1016/J.POSTHARVBIO.2016.04.014
- Maserti B., Podda A., Giorgetti L., Del Carratore R., Chevret D., Migheli Q. 2015. Proteome changes during yeast-like and pseudo-hyphal growth in the biofilm-forming yeast *Pichia fermentans*. *Amino Acids* 47 (6): 1091–1106. DOI: 10.1007/s00726-015-1933-1
- Masih E.I., Paul B. 2002. Secretion of  $\beta$ -1,3-glucanases by the yeast *Pichia membranifaciens* and its possible role in the biocontrol of *Botrytis cinerea* causing grey mold disease of the grapevine. *Current Microbiology* 44: 391–395. DOI: 10.1007/s00284-001-0011-y
- Melchor R.L.A., Rosales V.G., Pérez M.C.G., Fernández S.P., Álvarez G.O., Mastache J.M.N. 2018. Effectiveness of carboxylic acids from *Pichia membranifaciens* against coffee rust. *Ciência e Agrotecnologia* 42 (1): 42–50. DOI: 10.1590/1413-70542018421018817

- Murphy K.A., Tabuloc C.A., Cervantes K.R., Chiu J.C. 2016. Ingestion of genetically modified yeast symbiont reduces fitness of an insect pest via RNA interference. *Scientific Reports* 6: 22587. DOI: 10.1038/srep22587
- Naumov G.I., Naumova E.S. 2009. Chromosomal differentiation of the sibling species *Pichia membranifaciens* and *Pichia manshurica*. *Microbiology* 78 (2): 214–217. DOI: 10.1134/S002626170902012X
- Nowacka A., Hołodyńska-Kulas A. 2020. Pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych (2016–2017). [Pesticide residues in agricultural crops (2016–2017)]. *Progress in Plant Protection* 60 (3): 201–231. DOI: 10.14199/ppp-2020-023
- Pan M., Wei Y., Wang F., Liu T. 2020. Influence of plant species on biological control effectiveness of *Myzus persicae* by *Aphidius gifuensis*. *Crop Protection* 135: 105223. DOI: 10.1016/j.cropro.2020.105223
- Paśmionka I., Kotarba K. 2015. Możliwości wykorzystania efektywnych mikroorganizmów w ochronie środowiska. [Possible application of effective microorganisms in environmental protection]. *Kosmos Problemy Nauk Biologicznych* 64 (1): 173–184.
- Perek A., Krzymińska J., Świerczyńska I. 2013. Porównanie antagonistycznego oddziaływania grzybów z rodzaju *Trichoderma* oraz grzybów drożdżoidalnych na patogeny z rodzaju *Fusarium* w warunkach *in vitro*. [Comparison of the antagonistic effect of *Trichoderma* spp. and yeasts on pathogenic *Fusarium* spp. in *in vitro* conditions]. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering* 58 (4): 99–103.
- Remlein-Starosta D., Krzymińska J., Kowalska J., Bocianowski J. 2016. Evaluation of yeast-fungi to protect Virginia mallow (*Sida hermaphrodita*) against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Science* 96 (2): 243–251. DOI: 10.1139/cjps-2015-0230
- Ruiz-Moyano S., Hernández A., Galvan A.I., Córdoba M.G., Casquete R., Serradilla M.J., Martín A. 2020. Selection and application of antifungal VOCs-producing yeasts as biocontrol agents of grey mould in fruits. *Food Microbiology* 92: 103556. DOI: 10.1016/j.fm.2020.103556
- Santos A., Marquina D. 2004. Killer toxin of *Pichia membranifaciens* and its possible use as a biocontrol agent against grey mould disease of grapevine. *Microbiology* 150 (8): 2527–2534. DOI: 10.1099/mic.0.27071-0
- Singh B., Singh K. 2016. Microbial degradation of herbicides. *Critical Reviews in Microbiology* 42 (2): 245–261. DOI: 10.3109/1040841X.2014.929564
- Słowik-Borowiec M., Szpyrka E., Podbielska M., Kurdziel A., Matyaszek A. 2012. Pozostałości środków ochrony roślin w niektórych warzywach korzeniowych i ziemniakach z terenu południowo-wschodniej Polski (2009–2011). [Pesticide residues in root vegetables and potatoes in south-eastern Poland (2009–2011)]. *Polish Journal of Agronomy* 11: 47–51.
- Sosnowska D. 2013. Postępy w badaniach i wykorzystanie grzybów pasożytniczych w integrowanej ochronie roślin. [Progress in research and the use of pathogenic fungi in integrated plant protection]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 53 (4): 747–750. DOI: 10.14199/ppp-2013-018
- Sosnowska D. 2018. Konserwacyjna metoda biologiczna wsparciem integrowanej ochrony roślin i rolnictwa ekologicznego. [The contribution of conservation biological control method to integrated plant protection and organic farming]. *Progress in Plant Protection* 58 (4): 288–293. DOI: 10.14199/ppp-2018-040
- Sosnowska D. 2019. Grzyby pasożytnicze i antagonistyczne w biologicznej ochronie roślin w Polsce. [Parasitic and antagonistic fungi in biological plant protection in Poland]. *Progress in Plant Protection* 59 (4): 223–231. DOI: 10.14199/ppp-2019-029
- Spadaro D., Droby S. 2016. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends in Food Science & Technology* 47: 39–49. DOI: 10.1016/j.tifs.2015.11.003
- Tomalak M. 2010. Rynek biologicznych środków ochrony roślin i przepisy legislacyjne. [The market of biological plant protection products and legislative provisions]. *Progress in Plant Protection/ Postępy w Ochronie Roślin* 50 (3): 1052–1063.
- Villalba M.L., Mazzucco M.B., Lopes C.A., Ganga M.A., Sangorrín M.P. 2020. Purification and characterization of *Saccharomyces eubayanus* killer toxin: Biocontrol effectiveness against wine spoilage yeasts. *International Journal of Food Microbiology* 331: 108714. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108714
- Villalba M.L., Susana Sáez J., Del Monaco S., Lopes C.A., Sangorrín M.P. 2016. TdKT, a new killer toxin produced by *Torulasporea delbrueckii* effective against wine spoilage yeasts. *International Journal of Food Microbiology* 217: 94–100. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.006
- Wang X.-X., Chi Z., Peng Y., Wang X.-H., Ru S.-G., Chi Z.-M. 2012. Purification, characterization and gene cloning of the killer toxin produced by the marine-derived yeast *Williopsis saturnus* WC91-2. *Microbiological Research* 167 (9): 558–563. DOI: 10.1016/j.micres.2011.12.001
- Woźniak M., Ratajczak I., Kwaśniewska P., Cofta G., Hołderna-Kędzia E., Mazela M. 2015. Badanie aktywności ekstraktów propolisowych wobec wybranych gatunków grzybów pleśniowych. [The activity of propolis extracts against selected moulds]. *Postępy Fitoterapii* 4/2015: 205–209.
- Zhang J., Khan S.A., Heckel D.G., Bock R. 2017. Next-generation insect-resistant plants: RNAi-mediated crop protection. *Trends Biotechnology* 35 (9): 871–882. DOI: 10.1016/j.tibtech.2017.04.009
- Zhao Y., Tu K., Shao X.F., Jing W., Yang J.L., Su Z.P. 2008. Biological control of the post-harvest pathogens *Alternaria solani*, *Rhizopus stolonifer*, and *Botrytis cinerea* on tomato fruit by *Pichia guilliermondii*. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 83 (1): 132–136. DOI: 10.1080/14620316.2008.11512358