

А.М. Сатенова^{1,2*}, К.М. Аубакирова¹, М.С. Уразова², А.К. Туякова²,
А.С. Абиляхадиров², С.М. Шайхин²

¹ Евразийский Национальный университет им Л.Н Гумилева, Астана, Казахстан,
amsatenova01@gmail.com*, aubakirova_km@enu.kz

² Республиканская коллекция микроорганизмов, Астана, Казахстан, maira_01@mail.ru,
altynay_79@mail.ru, good_alien@mail.ru, rkm_shaikhin@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МЕСТНОГО ШТАММА *METSCHNIKOWIA PULCHERRIMA* МРЗ В ОТНОШЕНИИ ГРИБКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР

Аннотация

Для предотвращения гниения после сбора урожая и повышения безопасности и качества фруктов разрабатываются альтернативные синтетическим фунгицидам технологии с биофунгицидной защитой, с участием антагонистических дрожжей.

Цель работы заключалась в поиске наиболее эффективного штамма *Metschnikowia pulcherrima* в качестве средства биологического контроля для профилактики послеуборочных заболеваний плодовоовощных культур, вызванных плесенью. В работе исследовали 8 штаммов антагонистических дрожжей *Metschnikowia pulcherrima*, выделенных из эписферы яблок и груш садоводческого хозяйства южного Казахстана.

У целевых штаммов были измерены *in vitro* антагонистические активности к плесневым грибам *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger* и *Botrytis Cinerea* на картофельно-декстрозном агаре (PDA) и на ранах, искусственно нанесенных на фрагментах плодов яблони, а также измерены активности образования биопленки. Штамм *M. pulcherrima* МРЗ показал высокую антагонистическую активность и эффективность биологического контроля на искусственных ранах яблок, а также сравнительно высокую активность образования биопленки.

Результаты этого исследования ясно показали, что штамм *M. pulcherrima* МРЗ является очень эффективным средством биологического контроля, который может быть использован для профилактики послеуборочных заболеваний, вызванных плесенью. Этот штамм *M. pulcherrima* МРЗ может быть разработан как коммерческий продукт для послеуборочной защиты фруктов и овощей от грибковых патогенов.

Ключевые слова: плодовые культуры, грибы, послеуборочная порча, биоконтроль, фунгициды, дрожжи, антоганизм.

Введение

Существует более 90 видов грибов, вызывающих послеуборочные заболевания, и они распространены в различных регионах выращивания, с различными климатическими условиями, сортами продукции, технологиями производства и хранения плодов [1]. Использование синтетических фунгицидов остается преобладающей стратегией борьбы с микробной порчей после сбора урожая [2]. Однако их использование все чаще ставится под сомнение из-за проблем с окружающей средой и безопасностью пищевых продуктов, что подчеркивает необходимость альтернативных стратегий борьбы. В этом контексте использование штаммов антагонистических дрожжей представляет собой многообещающий вариант для минимизации послеуборочных потерь, предлагая устойчивое и безопасное решение для удовлетворения растущего мирового спроса на продовольствие [3,4]. Поражаемость плодов болезнями при хранении сильно варьируется в зависимости от помологического сорта. яблони. Также серьезные последствия вызывают и механические повреждения. Ухудшение качественных показателей снижает потребительские свойства продукта и ведет к уменьшению цены реализации[5]. Одним из ключевых преимуществ

дрожжей является их мощная противогрибковая и антагонистическая активность, что делает их идеальными кандидатами для борьбы с грибковыми патогенами. Кроме того, их способность расти в различных условиях, проявлять устойчивость к стрессам, и простота выращивания еще больше увеличили их значимость для применения в различных областях биотехнологических производств [6-9].

Поверхность плода является естественным резервуаром для эпифитных дрожжей. Система биоконтроля состоит из четырех основных элементов: хозяин (плоды), патоген (грибы), дрожжи (дрожжи-антагонисты) и резидентной эпифитной флоры. Использование дрожжей-антагонистов в качестве биофунгицидов было предметом обширных исследований. В этом направлении наиболее часто регистрируемые антагонистические дрожжи относятся к таким родам, как *Pichia*, *Candida*, *Metschnikowia*, *Hanseniaspora*, *Debaryomyces*, *Aureobasidium* и *Saccharomyces* [10].

Metschnikowia pulcherrima — это повсеместно распространенные дрожжи, которые обладают высокой экологической адаптивностью и широко распространены по всему миру. Они часто встречаются в цветах, нектаре, а также в свежих и испорченных фруктах [11]. Эти дрожжи обычно продуцируют пульхерримин, красный пигмент, который приводит к появлению отличительных признаков колонии [12]. *M. pulcherrima* обладает превосходными противогрибковыми свойствами. Кроме того, при нанесении на свежесрезанные фрукты *M. pulcherrima* эффективно подавляет рост патогенных микроорганизмов пищевого происхождения, включая *Listeria monocytogenes* и *Salmonella enterica* [13,14]. Европейское агентство по безопасности пищевых продуктов (EFSA) официально признало средствами защиты растений от грибковых заболеваний некоторые штаммы дрожжей *Metschnikowia*. Предуборочная обработка с применением этих дрожжей становится все более популярной, так как они успешно колонизируют поверхность плодов, препятствуя размножению патогенов [15].

Цель работы заключалась в поиске наиболее эффективного штамма *Metschnikowia pulcherrima* в качестве средства биологического контроля для профилактики послеуборочных заболеваний плодовоовощных культур, вызванных плесенью.

Объекты и методы исследования.

Объектами исследования были 8 штаммов дрожжей вида *M. pulcherrima*, выделенные из карпосферы плодовых культур садоводческого хозяйства южного Казахстана (Енбекшиказахский район, Алматинской области).

In vitro скрининг дрожжей, обладающих антагонистической активностью. *In vitro* скрининг дрожжей был проведен методом двойных культур [16]. В качестве индикаторных фитопатогенов для 8 целевых дрожжей были взяты *R. stolonifer* (ATCC 6227b), *Aspergillus niger* (ATCC 6275) (Американская коллекция типовых культур) и *Botrytis Cinerea* (F-RKM 1032) из музея ТОО «Республиканской коллекции микроорганизмов». Для оценки эффективности биологического контроля целевых дрожжей в образцовых вариантах культивировали дрожжи вместе с каждым по отдельности фитопатогеном на картофельно-декстрозном агаре (PDA). Мицелиальные пробки диаметром 6 мм были вырезаны из семидневных культур фитопатогенных грибов и помещены в центр чашки со средой. Двухдневную культуру дрожжей петлей наносили на расстоянии 1,5 см от края чашки. В контрольном варианте инкубировалась чашка со средой и фитопатогеном, но без дрожжей. Образцовые и контрольные чашки инкубировали при температуре 28 ± 2 °C термостате (BINDER RI 115, Германия) в течение семи дней.

Антагонистическую активность дрожжей оценивали по проценту подавления радиального роста грибов (PIRG), который вычисляли по формуле:

$$PIRG = (R1 - R2)/R1 \times 100 \quad (1)$$

где R1 - радиальный рост индикаторных фитопатогенов в отсутствии дрожжей-антагонистов в контрольном варианте;

R2 - радиальный рост индикаторных фитопатогенов в присутствии целевых дрожжей-антагонистов в образцовом варианте.

Это исследование проводилось в трех повторностях.

Образование биопленки целевых дрожжей. Образование биопленки антагонистическими дрожжами проводили согласно общепризнанной методике с небольшой модификацией [17]. Дрожжи выращивали в 1 мл питательной среды YPD (1% дрожжевого экстракта, 2% пептона и 2% глюкоза) 20 ч при 30°C в термостате (BINDER RI 115, Германия) и довели концентрацию до $OD_{550} = 1,0$ ($\sim 3 \times \text{Log}7$ клеток/мл). Объем 20 мкл дрожжевых клеток и 180 мкл среды YPD помещали в стерильный 96-луночный планшет (Corning, Sigma-Aldrich), который культивировали в течение 72 часов при 28°C. После инкубации удаляли среду из лунок и дважды осторожно промывали лунки 200 мкл фосфатно-солевого буфера (PBS) для удаления свободных клеток. Затем проводили окрашивание в течение 10 мин 200 мкл раствора кристаллического фиолетового (0,1%) при комнатной температуре, промывали PBS три раза и сушили на воздухе. Затем в каждую лунку добавляли по 200 мкл уксусной кислоты (33%) и инкубировали в течение 30 минут при 150 об/мин (Шейкер-инкубатор Innova 44, Германия) комнатной температуре. OD при длине волны 550 нм измеряли с помощью спектофотометрического ридера EZ Read 400. (Easy read 400, Biochrome, США). YPD среду без дрожжевых клеток использовали в качестве отрицательного контроля.

Определение эффективности биологического контроля штамма *M. pulcherrima* MP3 на яблоках. Штамм *M. pulcherrima* MP3 культивировали в течение 48 часов в 10 мл питательной среды YPD (1% дрожжевого экстракта, 2% пептона и 2% глюкоза) при температуре 30°C в инкубаторе-шейкере (Innova 44, Германия) со скоростью 130 об/мин. Клетки собирали центрифугированием (Sorvall RC6 Plus, США) 4000 об/мин и однократно промывали 10 мл стерильной дистиллированной воды. Суспензию клеток *M. pulcherrima* MP3 довели до концентрации ($1,0 \times 5\text{Log}$) клеток/мл с использованием стерильного 0,1% раствора Твин 80. Для анализа были взяты ломтики яблок (сорт Айдаред) которые готовились в асептических условиях. В первую из трех лунок с диаметром (3 - 4 мм) и глубиной (3 - 4 мм), полученных с помощью стерильных наконечников для пипеток, вносили 10 μL суспензии *M. pulcherrima* MP3 ($\sim 3,0 \times 5\text{Log}$ клеток). Во вторую лунку вносили 10 μL суспензии *M. pulcherrima* MP3 вместе с 10 μL суспензии спор патогена ($\sim 1,0 \times 3\text{Log}$ спор). В третью лунку вносили 10 μL суспензии спор патогена. Ломтики яблок, помещенные в стерильные чашки Петри, инкубировали при 28°C в течение 7 дней. По окончании инкубационного периода зоны порчи на кусочках яблок измерялись штангенциркулем [18].

Результаты и обсуждения

Проведенные измерения антагонистической активности целевых дрожжей методом двойных культур показали значимо различимые уровни антагонистической активности после семи дней инкубации. Штамм MP-03 показал по сравнению с другими штаммами наибольшую антагонистическую активность, которую выражали в процентах ингибирования радиального роста фитопатогена (PIRG), как показано в Таблице 1.

Таблица 1 - Результаты антагонистической активности

Фитопатоген	Индекс ингибирования радиального роста фитопатогенов, % (PIRG) = (R1 - R2) / R1							
	MP-1	MP-2	MP-3	MP-4	MP-5	MP-6	MP-7	MP-8
<i>B. cinerea</i>	24,1 $\pm$ 0,6*	23,2 $\pm$ 1,3	29,0 $\pm$ 1,1	23,2 $\pm$ 0,4	21,6 $\pm$ 0,6	18,3 $\pm$ 0,3	22,3 $\pm$ 1,3	18,2 $\pm$ 0,6
<i>R. stolonifer</i>	23,4 $\pm$ 0,6	22,4 $\pm$ 0,9	30,2 $\pm$ 0,9	2,1 $\pm$ 1,6	20,2 $\pm$ 0,1	20,2 $\pm$ 0,9	20,1 $\pm$ 0,3	16,4 $\pm$ 0,8
<i>A. niger</i>	23,7 $\pm$ 0,2	23,6 $\pm$ 0,6	27,3 $\pm$ 0,5	3,5 $\pm$ 0,9	21,1 $\pm$ 0,3	18,1 $\pm$ 1,4	20,4 $\pm$ 0,8	17,1 $\pm$ 0,9

*-стандартное отклонение среднего значения (n=3)

Антагонистическое действие дрожжей или ингибирование прорастания спор и развития мицелия фитопатогенов (Табл.1) может быть обусловлено конкуренцией за питательные вещества, секрецию дрожжами диффундирующих в среде роста летучих органических соединений и других токсинов [11, 19].

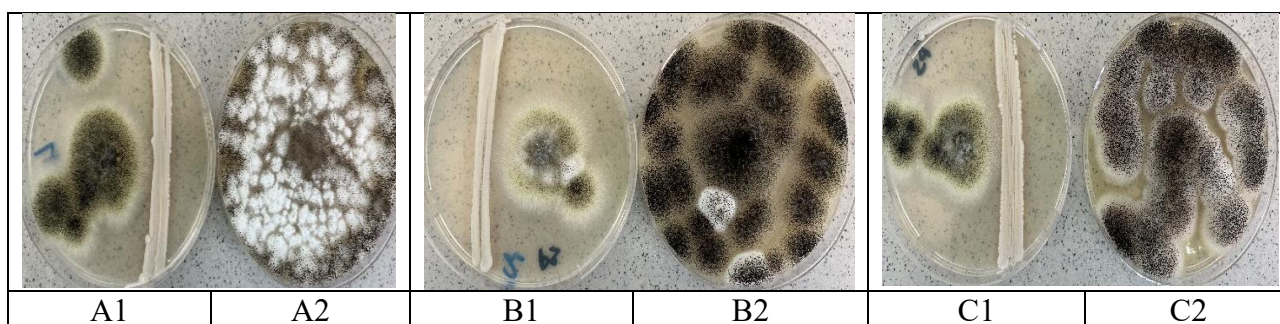


Рисунок 1 - Подавление роста плесневых грибов (A1 - *R. stolonifer* (ATCC 6227b), A2 - контроль, B1- *Aspergillus niger* (ATCC 6275), B2- контроль, C1- *Botrytis Cinerea* (F-RKM 1032), C2 - контроль при совместном культивировании со штаммом дрожжей MP3 в сравнении с контролем.

Оценка образования биопленок штаммами дрожжей показала, что после 72-часовой инкубации все штаммы дрожжей были способны закрепляться в лунках микротитровального планшета после трех промываний (Рис. 2). Результаты находятся в хорошем согласии с данными литературы [20]. Авторы цитируемой работы показали, что клетки штамма *M. pulcherrima* через 3 ч смогли прикрепиться к полистироловым пластинам после повторных промываний ($OD\ 1,85 \pm 0,16$). Их эксперименты также показали, что клетки штамма *M. pulcherrima* сохраняли высокую пленкообразующую способность также после 48 ч ($OD\ 1,15 \pm 0,08$) и 72 ч инкубации ($OD\ 1,12 \pm 0,16$). Последний результат авторов ($OD = 1,12$) хорошо согласуется с результатом настоящей работы, где встречаются штаммы с OD близкими по значению с цитируемой работой. Небольшое различие в цифрах может быть связано с длиной волны поглощаемого излучения. Авторы использовали 590 нм - излучение, в нашем случае использовано 550 нм - излучение.

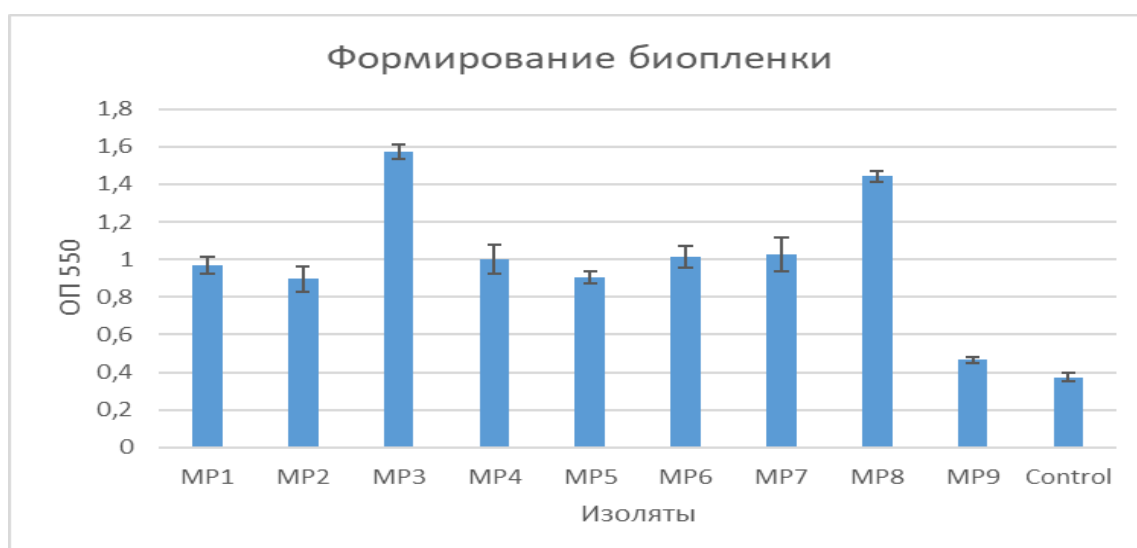


Рисунок 2 - Анализ способности к образованию биопленок дрожжевых штаммов. Планками показаны стандартные отклонения средних значений ($n=3$).

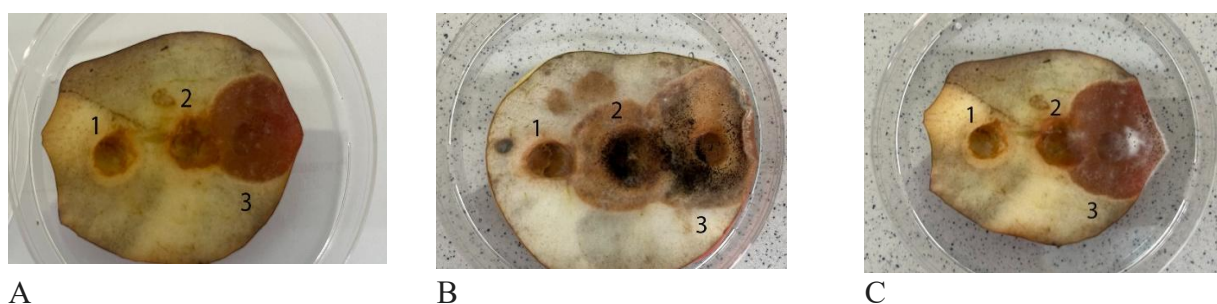
Пленкообразующая способность дрожжей важна для биоконтролирующей активности, так как, биопленка может служить физическим барьером для фитопатогена, отделяющим его

от поверхностной раны плода растения [18]. Авторы наблюдали положительную связь между образованием биопленки и способностью к колонизации ран для *M. pulcherrima*.

На рис.2 значения оптической плотности при длине волны 550 нм (OD_{550}) в образцах с целевыми штаммами *M. pulcherrima* оказались выше, чем у отрицательного контроля, а штаммы *M. pulcherrima* МР-3 и МР-8 показали значимо ($P < 0.05$) наибольшую активность образования биопленки в сравнении с остальными штаммами. По причине того, что штамм МР-3 значимо ($P < 0.05$) превосходил МР-8 в антагонистической активности (Табл.1), именно штамм *M. pulcherrima* МР-3 был выбран как наиболее эффективный штамм.

После того, как был найден наиболее активный биоцидный штамм МР3 и показана его исключительная активность в образовании биопленки была измерена его эффективность в качестве средства биологического контроля в экспериментах на яблоках.

На рис.3 показаны результаты одного из проведенных 3 повторных экспериментов по семидневной инкубации, и в Таблице 2 показаны данные 3 экспериментов, из которых следует подтверждение высокой эффективности штамма МР3 в биологическом контроле фитопатогенов.



А

В

С

Рисунок 3 - Ингибирующее действия штамма МР-3 на фитопатогены *R. stolonifer* (А), *A. niger* (В) и *B. cinerea* (С) на искусственных ранах яблока на 7 день инкубации. 1 - только *M. pulcherrima* МР-3; 2 - споры гриба и *M. pulcherrima* МР-3 и 3 - только споры гриба.

Таблица 2 - Ингибирующее действие штамма МР-3 на фитопатогенные грибы на ранах яблока.

Виды фитопатогенных грибов	Инокуляты и зоны (мм) роста грибов		% Биоконтроля
	Споры гриба + МР3	Только споры гриба	
<i>R. stolonifer</i>	3.12 ± 0.27	13.75 ± 1.09	77.25 ± 2.23
<i>A.niger</i>	5.35 ± 0.23	16.63 ± 0.63	67.77 ± 2.16
<i>B. cinerea</i>	3.58 ± 0.21	12.6 ± 0.72	71.45 ± 2.64

* процент активности биоконтроля был определен по формуле: $C = (A/B - 1) \times 100$ [16].
§ стандартное отклонение ($n=3$).

По результатам измерений штамм МР3 значимо выше ингибирует прорастание и рост мицелия спор *R. stolonifer* по сравнению с *B. cinerea* и *A. niger* ($P < 0.05$) на искусственных ранках яблок.

Известно, что дрожжи оказывают неблагоприятное воздействие на другие микроорганизмы посредством различных механизмов, таких как конкуренция за питательные вещества, секреция литических ферментов и сидерофоров, высвобождение летучих соединений, продукция факторов-киллеров, прямой физический контакт, образование биопленок и т. д. Некоторые из этих механизмов также были вовлечены в антимикробную активность дрожжей *Metschnikowia*, продуцирующих пульхерримин [11].

Процент биоконтролируемой активности штамма МР-3 против гриба *A. niger* (67,77%) из настоящей работы близок по значению к аналогичному показателю штамма *M. pulcherrima* UMY15 (60%) из другой публикации [16]. В цитируемой работе также было измерено ингибирование прорастания спор и роста грибов в виноградном соке, и авторы показали, что процент биоконтролирующей активности штамма UMY15 против *Rhizopus* sp (75%) был более

чем в 2 раза выше, чем против *A. niger* (30%). Аналогичным образом, в настоящей работе, хотя и на ранах яблонь, биоконтролирующая активность штамма МРЗ против *R. stolonifera* была значительно выше, чем против *A. niger* (таблица 2).

Выводы

В этой работе проведен сравнительный анализ эффективности биологического контроля для 8 штаммов вида *M. pulcherrima* в отношении послеуборочных патогенов на синтетической среде роста и на искусственных ранах яблок. Результаты работы ясно показали, что штамм *M. pulcherrima* МРЗ является очень эффективным средством биологического контроля, который может быть использован для профилактики послеуборочных заболеваний, вызванных плесенью. Этот штамм *M. pulcherrima* МРЗ может быть разработан как коммерческий продукт для послеуборочной защиты фруктов и овощей от грибковых патогенов.

Благодарность. Статья была подготовлена в рамках реализации проекта ИРН АР19678630 «Получение биологического фунгицида широкого спектра действия для обеспечения и сохранения высоких урожаев фермерских хозяйств Казахстана».

Список литературы

1. Głos, H.; Bryk, H.; Michalecka, M.; Puławska, J. The Recent Occurrence of Biotic Postharvest Diseases of Apples in Poland. *Agronomy* 2022, 12, 399. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020399>.
2. Wang W., Ling Y., Deng L., Yao S., Zeng K. Effect of L-cysteine treatment to induce postharvest disease resistance of *Monilinia fructicola* in plum fruits and the possible mechanisms involved. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2023;191 doi: 10.1016/j.pestbp.2023.105367.
3. Zhang X., Li B., Zhang Z., Chen Y., Tian S. Antagonistic yeasts: a promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. *Journal of Fungi*. 2020; 6:158. doi: 10.3390/jof6030158.
4. Hosseini A., Koushesh Saba M., Watkins C.B. Microbial antagonists to biologically control postharvest decay and preserve fruit quality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2023;1–13. doi: 10.1080/10408398.2023.2184323.
5. Аскарова М., Уразова М., Корабаева С., Скак С. & Турусбекова С. Эффективность послеуборочного применения биологического препарата на основе дрожжей *Metschnikowia pulcherrima* для обеспечения длительного хранения и высокого качества плодов // *Izdenister Natigeler*, №2 (98). - 2023. -С. 189–199. <https://doi.org/10.37884/2-2023/19>
6. Sabu C., Mufeedha P., Pramod K. Yeast-inspired drug delivery: biotechnology meets bioengineering and synthetic biology. *Expet Opin. Drug Deliv.* 2019; 16:27–41. doi: 10.1080/17425247.2019.1551874.
7. Maicas S. The role of yeasts in fermentation processes. *Microorganisms*. 2020; 8:1142. doi: 10.3390/microorganisms8081142.
8. Mukherjee A., Verma J.P., Gaurav A.K., Chouhan G.K., Patel J.S., Hesham A.E.-L. Yeast a potential bio-agent: future for plant growth and postharvest disease management for sustainable agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2020; 104:1497–1510. doi: 10.1007/s00253-019-10321-3.
9. Dhakal S., Macreadie I. The Use of yeast in Biosensing. *Microorganisms*. 2022; 10:1772. doi: 10.3390/microorganisms10091772.
10. González-Estrada R., Blancas-Benítez F., Velázquez-Estrada R. Et.al. Alternative Eco-Friendly Methods in the Control of Post-Harvest Decay of Tropical and Subtropical Fruits. *Environmental Science, Agricultural and Food Sciences*. 2019, doi:10.5772/intechopen 85682.
11. Morata, A.; Loira, I.; Escott, C.; del Fresno, J.M.; Bañuelos, M.A.; Suárez-Lepe, J.A. Applications of *Metschnikowia pulcherrima* in wine biotechnology. *Fermentation* 2019, 5, 63.
12. Sipiczki M. *Metschnikowia pulcherrima* and Related Pulcherrimin-Producing Yeasts: Fuzzy Species Boundaries and Complex Antimicrobial Antagonism. *Microorganisms*. 2020 Jul 12;8(7):1029. doi: 10.3390/microorganisms8071029. PMID: 32664630; PMCID: PMC7409158
13. Leverentz, B.; Conway, W.S.; Janisiewicz, W.; Abadias, M.; Kurtzman, C.P.; Camp, M.J. Biocontrol of the food-borne pathogens *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar

Poona on fresh-cut apples with naturally occurring bacterial and yeast antagonists. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006, 72, 1135–1140.

14. Fadahunsi, I.F.; Olubodun, S. Antagonistic pattern of yeast species against some selected food-borne pathogens. *Bull. Natl. Res. Cent.* 2021, 45, 34.

15. Аскарова М., Ажитаева Л., Уразова М., Шайхин С., Айтенов А. & Туякова А. Влияние биологического препарата на основе дрожжей *Metschnikowia pulcherrima* на сохранность столовых сортов винограда при хранении // *Izdenister Natigeler.* №4 (104), - 2024. – С.223–235 <https://doi.org/10.37884/4-2024/23>

16. Hassan, H.; Mohamed, M.T.M.; Yusoff, S.F.; Hata, E.M.; Tajidin, N.E. Selecting Antagonistic Yeast for Postharvest Biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in Papaya Fruit and Possible Mechanisms Involved. *Agronomy* 2021, 11, 760. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040760>.

17. Wang Z, Xu W, Gao Y, Zha M, Zhang D, Peng X, Zhang H, Wang C, Xu C, Zhou T, Liu D, Niu H, Liu Q, Chen Y, Zhu C, Guo T, Ying H. Engineering *Saccharomyces cerevisiae* for improved biofilm formation and ethanol production in continuous fermentation. *Biotechnol Biofuels Bioprod.* 2023 Jul 31;16(1):119. doi: 10.1186/s13068-023-02356-6.

18. Türkel S, Korukluoğlu M, Yavuz M. Biocontrol Activity of the Local Strain of *Metschnikowia pulcherrima* on Different Postharvest Pathogens. *Biotechnol Res Int.* 2014; 2014:397167. doi: 10.1155/2014/397167.

19. Millan, A. F. S., Gamir, J., Farran, I., Larraya, L., & Veramendi, J. (2022). Identification of new antifungal metabolites produced by the yeast *Metschnikowia pulcherrima* involved in the biocontrol of postharvest plant pathogenic fungi. *Postharvest Biology and Technology*, 192(June), 111995. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.111995>

20. Parafati, L., Vitale, A., Restuccia, C., & Cirvilleri, G. (2015). Biocontrol ability and action mechanism of food-isolated yeast strains against *Botrytis cinerea* causing post-harvest bunch rot of table grape. *Food Microbiology*, 47, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.013>

References

1. Głos, H.; Bryk, H.; Michalecka, M.; Puławska, J. The Recent Occurrence of Biotic Postharvest Diseases of Apples in Poland. *Agronomy* 2022, 12, 399. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020399>.

2. Wang W., Ling Y., Deng L., Yao S., Zeng K. Effect of L-cysteine treatment to induce postharvest disease resistance of *Monilinia fructicola* in plum fruits and the possible mechanisms involved. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2023;191 doi: 10.1016/j.pestbp.2023.105367.

3. Zhang X., Li B., Zhang Z., Chen Y., Tian S. Antagonistic yeasts: a promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. *Journal of Fungi.* 2020; 6:158. doi: 10.3390/jof6030158.

4. Hosseini A., Koushesh Saba M., Watkins C.B. Microbial antagonists to biologically control postharvest decay and preserve fruit quality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2023;1–13. doi: 10.1080/10408398.2023.2184323.

5. Askarova M., Urazova M., Korabaeva S, Skak S., T. Turuspekova S. EHffektivnost' posleuborochnogo primeneniya biologicheskogo preparata na osnove drozhzhej *Metschnikowia pulcherrima* dlya obespecheniya dlitel'nogo khraneniya i vysokogo kachestva plodov, *Izdenister, nәtizheler –Issledovaniya, rezul'taty.* No2(98). - 2023, -S.189-190. <https://doi.org/10.37884/2-2023/19D>

6. Sabu C., Mufeedha P., Pramod K. Yeast-inspired drug delivery: biotechnology meets bioengineering and synthetic biology. *Expet Opin. Drug Deliv.* 2019; 16:27–41. doi: 10.1080/17425247.2019.1551874.

7. Maicas S. The role of yeasts in fermentation processes. *Microorganisms.* 2020; 8:1142. doi: 10.3390/microorganisms8081142.

8. Mukherjee A., Verma J.P., Gaurav A.K., Chouhan G.K., Patel J.S., Hesham A.E.-L. Yeast a potential bio-agent: future for plant growth and postharvest disease management for sustainable agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2020; 104:1497–1510. doi: 10.1007/s00253-019-10321-3.
9. Dhakal S., Macreadie I. The Use of yeast in Biosensing. *Microorganisms*. 2022; 10:1772. doi: 10.3390/microorganisms10091772.
10. González-Estrada R., Blancas-Benítez F., Velázquez-Estrada R. Et.al. Alternative Eco-Friendly Methods in the Control of Post-Harvest Decay of Tropical and Subtropical Fruits. *Environmental Science, Agricultural and Food Sciences*. 2019, doi:10.5772/intechopen 85682.
11. Morata, A.; Loira, I.; Escott, C.; del Fresno, J.M.; Bañuelos, M.A.; Suárez-Lepe, J.A. Applications of *Metschnikowia pulcherrima* in wine biotechnology. *Fermentation* 2019, 5, 63.
12. Sipiczki M. *Metschnikowia pulcherrima* and Related Pulcherrimin-Producing Yeasts: Fuzzy Species Boundaries and Complex Antimicrobial Antagonism. *Microorganisms*. 2020 Jul 12;8(7):1029. doi: 10.3390/microorganisms8071029. PMID: 32664630; PMCID: PMC7409158
13. Leverentz, B.; Conway, W.S.; Janisiewicz, W.; Abadias, M.; Kurtzman, C.P.; Camp, M.J. Biocontrol of the food-borne pathogens *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar Poona on fresh-cut apples with naturally occurring bacterial and yeast antagonists. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006, 72, 1135–1140.
14. Fadahunsi, I.F.; Olubodun, S. Antagonistic pattern of yeast species against some selected food-borne pathogens. *Bull. Natl. Res. Cent.* 2021, 45, 34.
15. Askarova M., Azhitaeva L., Urazova M., Shajhin S., Ajtenov A. & Tuyakova, A. Vliyanie biologicheskogo preparata na osnove drozhzhej *Metschnikowia pulcherrima* na sohrannost' stolovykh sortov vinograda pri hranenii. *Izdenister Natigeler*, №4 (104), -2023. -S. 223–235. <https://doi.org/10.37884/4-2024/23>
16. Hassan, H.; Mohamed, M.T.M.; Yusoff, S.F.; Hata, E.M.; Tajidin, N.E. Selecting Antagonistic Yeast for Postharvest Biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in Papaya Fruit and Possible Mechanisms Involved. *Agronomy* 2021, 11, 760. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040760>.
17. Wang Z, Xu W, Gao Y, Zha M, Zhang D, Peng X, Zhang H, Wang C, Xu C, Zhou T, Liu D, Niu H, Liu Q, Chen Y, Zhu C, Guo T, Ying H. Engineering *Saccharomyces cerevisiae* for improved biofilm formation and ethanol production in continuous fermentation. *Biotechnol Biofuels Bioprod.* 2023 Jul 31;16(1):119. doi: 10.1186/s13068-023-02356-6.
18. Türkel S, Korukluoğlu M, Yavuz M. Biocontrol Activity of the Local Strain of *Metschnikowia pulcherrima* on Different Postharvest Pathogens. *Biotechnol Res Int.* 2014; 2014:397167. doi: 10.1155/2014/397167.
19. Millan, A. F. S., Gamir, J., Farran, I., Larraya, L., & Veramendi, J. (2022). Identification of new antifungal metabolites produced by the yeast *Metschnikowia pulcherrima* involved in the biocontrol of postharvest plant pathogenic fungi. *Postharvest Biology and Technology*, 192(June), 111995. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.111995>
20. Parafati, L., Vitale, A., Restuccia, C., & Cirvilleri, G. (2015). Biocontrol ability and action mechanism of food-isolated yeast strains against *Botrytis cinerea* causing post-harvest bunch rot of table grape. *Food Microbiology*, 47, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.013>

**А.М. Сатенова^{1,2*}, К.М. Аубакирова¹, М.С. Уразова², А.К. Туякова²,
А.С. Абилхадиров², С.М. Шайхин²**

¹ Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия Ұлттық университеті, Астана, Қазақстан,
amsatenova01@gmail.com*, aubakirova_km@enu.kz

² Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы, Астана, Қазақстан,
altynay_79@mail.ru, good_alien@mail.ru, rkm_shaikhin@mail.ru

**ЖЕМІС ДАҚЫЛДАРЫНЫҢ САҢЫРАУҚҰЛАҚ АУРУЛАРЫНА ҚАТЫСТЫ
METSCHNIKOWIA PULCHERRIMA МРЗ ЖЕРГІЛІКТІ ШТАММЫНЫҢ
АНТАГОНИСТІК БЕЛСЕНДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ**

Аңдатпа

Егін жинағаннан кейін шіріп кетудің алдын алу және жемістердің қауіпсіздігі мен сапасын Жинаудан кейінгі шіріктің алдын алу және жемістердің қауіпсіздігі мен сапасын жақсарту үшін антагонистік ашытқыларды қамтитын биофунгицидтік қорғанысы бар синтетикалық фунгицидтерге балама технологиялар әзірленуде.

Жұмыстың мақсаты көгерген жеміс-көкөніс дақылдарының егін жинаудан кейінгі ауруларының алдын алу үшін биологиялық бақылау құралы ретінде *Metschnikowia pulcherrima* ең тиімді штаммын табу болды. Жұмыста Оңтүстік Қазақстандағы бау-бақша шаруашылығының алма және алмұрт эписферасынан бөлініп алынған *Metschnikowia pulcherrima* антагонистік ашытқысының 8 штаммы зерттелді.

Мақсатты штаммдар картоп декстроза агарында (PDA) және алма жемісінің фрагменттеріне жасанды түрде түсірілген жаралардағы *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger* және *Botrytis Cinerea* зең саңырауқұлақтарына қарсы *in vitro* антагонистік әрекеттер үшін өлшенді және биоқабықша түзілу белсенділігі өлшенді. *M. pulcherrima* MP3 штаммы жоғары антагонистік белсенділікті және жасанды алма жараларында биологиялық бақылау тиімділігін, сонымен қатар салыстырмалы түрде жоғары биоқабықша түзу белсенділігін көрсетті.

Бұл зерттеудің нәтижелері *M. pulcherrima* MP3 штаммы көгеруден кейінгі егін жинаудан кейінгі аурулардың алдын алу үшін қолдануға болатын өте тиімді биологиялық бақылау құралы екенін анық көрсетті. Бұл *M. pulcherrima* MP3 штаммы жемістер мен көкөністерді саңырауқұлақ қоздырғыштарынан егін жинаудан кейін қорғау үшін коммерциялық өнім ретінде әзірленуі мүмкін.

Кілт сөздер: жеміс-жидек дақылдары, саңырауқұлақтар, егін жинаудан кейінгі бұзылулар, биобақылау, фунгицидтер, ашытқылар, антагонизм.

**A.M. Satenova^{1,2*}, K.M. Aubakirova¹, M.S. Urazova², A.K. Tuyakova²,
A.S. Abilkhadirov², S.M. Shaikhin²**

¹L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan,
amsatenova01@gmail.com*, aubakirova_km@enu.kz

²Republican Collection of Microorganisms, Astana, Kazakhstan, maira_01@mail.ru,
altynay_79@mail.ru, good_alien@mail.ru, rkm_shaikhin@mail.ru

STUDY OF ANTAGONISTIC ACTIVITY OF A LOCAL STRAIN OF METSCHNIKOWIA PULCHERRIMA MP3 IN RELATION TO FUNGAL DISEASES OF FRUIT CROPS

Abstract

To prevent rotting after harvesting and improve the safety and quality of fruits, biofungicide-protected technologies with antagonistic yeasts are being developed that are alternative to synthetic fungicides. The aim of the work was to find the most effective strain of *Metschnikowia pulcherrima* as a biological control agent for the prevention of post-harvest diseases of fruit and vegetable crops caused by mold. The study investigated 8 strains of antagonistic yeast *Metschnikowia pulcherrima* isolated from the episphere of apples and pears from horticultural farms in southern Kazakhstan.

In vitro antagonistic activities to the mold fungi *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger* and *Botrytis Cinerea* on potato dextrose agar (PDA) and on wounds artificially applied to fragments of apple fruits were measured in the target strains, as well as biofilm formation activity was measured. The *M. pulcherrima* MP3 strain showed high antagonistic activity and the effectiveness of biological control on artificial wounds of apples, as well as a relatively high activity of biofilm formation. The results of this study clearly showed that the *M. pulcherrima* MP3 strain is a very effective biological control agent that can be used to prevent post-harvest diseases caused by mold. This strain of *M. pulcherrima* MP3 can be developed as a commercial product for post-harvest protection of fruits and vegetables from fungal pathogens.

Key words: fruit crops, fungi, post-harvest spoilage, biocontrol, fungicides, yeast, antagonism