

Die Anwendungen der «schönen» Hefe *Metschnikowia pulcherrima* sind vielfältig

Ueli von Ah, Florian Freimoser
Agroscope, 3000 Bern, Schweiz

Auskünfte: Ueli von Ah, E-Mail: ueli.vonah@agroscope.admin.ch

<https://doi.org/10.34776/afs15-47> Publikationsdatum: 20. Februar 2024



Zusammenfassung

Neben der allgemein bekannten Bäcker-Hefe *Saccharomyces cerevisiae* gibt es noch diverse weitere Hefearten. Zu den bekannteren dieser Hefen gehören beispielsweise Vertreter der Gattungen *Kluyveromyces* oder *Pichia*. *Metschnikowia pulcherrima* ist eine Hefe, die häufig aus Blüten isoliert wird und auf Agar-Platten schöne, rote Kolonien bilden kann. Der Name «pulcherrima», die «Schönste», scheint deshalb passend. Diese Hefe findet immer häufiger Anwendungen in diversen Bereichen der Lebensmittelkette. Im Zusammenhang

mit BioControl hat die Spezies bereits einen Bekanntheitsgrad erreicht, während die Verwendung in fermentierten Lebensmitteln noch nicht sehr ausgeprägt ist. In diesem Übersichtsartikel versuchen wir, die Hefe *Metschnikowia pulcherrima* und ihre breiten Anwendungsmöglichkeiten vorzustellen.

Key words: yeasts, non-saccharomyces yeasts, biocontrol, metschnikowia, pulcherrima, oleaginous yeasts.

Einleitung

Wenn wir über Hefen sprechen, meinen wir in den meisten Fällen *Saccharomyces cerevisiae*. Dabei geht vergessen, dass es diverse weitere Hefe-Gattungen gibt. Dazu gehören z.B. *Pichia*, *Candida*, *Zygosaccharomyces* und viele weitere. Zusammenfassend werden diese Hefegruppen manchmal als nicht-*Saccharomyces* oder nicht-konventionelle Hefen bezeichnet. In diesem Artikel stellen wir die Hefe *Metschnikowia pulcherrima* und ihre verschiedenen Anwendungsmöglichkeiten vor. Der Gattungsname dieser Hefe ehrt den bekannten Immunologen und Erfinder der probiotischen Ernährung, Ilja Iljitsch Metschnikow. Die Bezeichnung der Spezies «pulcherrima» stammt aus dem Lateinischen und bedeutet die «Allerschönste». Der Name ist für diese meist auffallend rot gefärbte Hefe treffend, wurde aber ursprünglich vor allem wegen der schönen Zellform und mikroskopischen Beobachtungen gewählt (Kluyver *et al.*, 1953). Die rote Färbung auf Agarplatten ist eine willkommene Erleichterung für das Arbeiten mit dieser Hefe: *Metschnikowia*-Kolonien sind in der Regel einfach zu erkennen, was beispielsweise zum Üben der Hefeisolation in Praktika genutzt wird.

Wir beschreiben wo *Metschnikowia* zu finden ist und stellen verschiedene Anwendungen dieser Hefe in der Lebensmittelkette vor. Wir hoffen damit zu zeigen, dass Hefen wie *Metschnikowia pulcherrima* entlang der gesamten Lebensmittelproduktionskette, von der Produktion bis zum Verzehr («from farm to fork») vielfältige Anwendungsmöglichkeiten haben.

Metschnikowia pulcherrima ist ein Hefepilz. Dieser Organismus wächst somit als Einzeller, ganz ähnlich wie Bakterien. Auch wenn man es aufgrund des Wachstums nicht erwarten würde, ist *Metschnikowia* aber ein typischer Pilz und wesentlich näher mit dem Champignon verwandt als mit Bakterien. Die Art wurde 1968 formell beschrieben und ist unter verschiedenen Namen bekannt (z.B. *Candida pulcherrima*, *Rhodotorula pulcherrima*, oder *Saccharomyces pulcherrimus*) (Lopandic *et al.*, 1996). Neben *M. pulcherrima* gibt es noch diverse andere *Metschnikowia*-Arten, aber die eindeutige Bestimmung eines Isolates innerhalb der Gattung *Metschnikowia* ist trotz des Einsatzes molekularbiologischer Methoden schwierig (Troiano *et al.*, 2023). *M. pulcherrima* ist weltweit verbreitet und wird häufig auf Pflanzen und insbesondere in Blüten gefunden. Sie wird deshalb auch als Nektarhefe bezeichnet. Vermutlich weil *M. pulcherrima* Duftstoffe produziert, ist sie für Insekten besonders attraktiv. Mit Insekten als Vektoren kann *Metschnikowia* somit von Blüte zu Blüte und von Pflanze zu Pflanze gelangen.

Pulcherrimin

Vor allem im Labor, auf künstlichem Nährmedium, ist *M. pulcherrima* besonders auffällig: Enthält das Nährmedium Eisen, sind die Kolonien dieser Hefe stark rot pigmentiert. Das rote Pigment ist ein Stoff namens Pulcherrimin, bei dem es sich um einen Eisenkomplex von Pulcherriminsäure handelt (Charron-Lamoureux *et al.*, 2023). In der Gegenwart von Eisen und Pulcherriminsäure bildet sich Pulcherrimin spontan. Pulcherriminsäure ist wiederum das Oxidationsprodukt eines zyklischen Dipeptids, dem Zyklodileucin. Gebildet wird dieses von einer Zyklodipeptide-Synthase und für die Oxidation ist ein Cytochrom P450 Enzym verantwortlich. Pulcherriminsäure wird nicht nur von *M. pulcherrima* gebildet, sondern auch von anderen Pilzen und sogar von Bakterien (Angelini *et al.*, 2023; Ogbeide *et al.*, 2021). Interessanterweise unterscheiden sich die Pulcherriminsäure-Biosynthesewege von Pilzen und Bakterien. Vor allem in Pilzen sind diese noch relativ wenig erforscht. Es ist beispielsweise nicht bekannt, wie Pulcherrimin wieder abgebaut und somit von den Zellen genutzt werden kann. Die eisenbindende Eigenschaft von Pulcherriminsäure macht einen Teil der hemmenden Aktivität von *Metschnikowia* aus: Der Umgebung wird Eisen entzogen, was es anderen Mikroorganismen (Bakterien und Pilzen) verunmöglicht zu wachsen (Freimoser *et al.*, 2024; Gore-Lloyd *et al.*, 2019). Die Bildung von Pulcherrimin könnte aber auch weitere Funktionen haben; beispielsweise bei der Stressresistenz oder der Kommunikation von *Metschnikowia*-Zellen untereinander.

Anwendungen

Käse/Molke

Eine Anwendung von *Metschnikowia pulcherrima* in Käse wurde bisher noch nicht beschrieben. Als Nebenstrom in der Käseproduktion fällt jedoch Molke an, welche unter anderem zur Gewinnung von Molkenproteinen, Laktose und auch Bioethanol verwendet wird. Zhang *et al.* (Zhang *et al.*, 2022) haben aus Molkepulver, unter Verwendung eines *M. pulcherrima* Stammes, die Alkohole D-Arabitol und Galaktitol hergestellt. Galaktitol entsteht aus Galaktose und hat einen leicht süßlichen Geschmack. In Kombination mit *E. coli* wurde zudem auch D-Tagatose produziert. Andere *Metschnikowia*-Anwendungen wurden in der Milchverarbeitung bisher noch nicht beschrieben.

Wein

Weintrauben beherbergen eine diverse Gemeinschaft von Mikroorganismen zu der auch viele verschiedene nicht-konventionelle Hefearten zählen. Besonders am Anfang der Weinfermentation gehört auch *Metschnikowia* zum natürlichen Weinmikrobiom und wird oft in Spontangärungen gefunden. Während dem Gärungsprozess verschwindet diese Hefe jedoch langsam, weil sie nur geringe Alkoholgehalte toleriert. Nichtsdestotrotz sind diese Hefen für das endgültige Aroma des Weines wichtig (Maicas & Mateo, 2023).

Ursprünglich wurden nicht-konventionelle Hefen wie *Metschnikowia* für Fehlnoten und unvollständige Fermentationen verantwortlich gemacht. Mittlerweile hat man aber festgestellt, dass manche dieser Hefen die Weinherstellung positiv beeinflussen können. Nicht-*Saccharomyces* Hefen wie *Metschnikowia* scheiden Enzyme aus und bilden Metabolite, welche das Aroma von Weinen erweitern können. Manche Stämme können jedoch auch unangenehme Aromen bilden; eine Abklärung auf Stammebene ist somit nötig. Während der Weinherstellung wird Schwefel eingesetzt, um Oxidationsprozesse zu unterbinden und unerwünschte Mikroorganismen zu hemmen, ohne das Aroma zu verändern. Die Nachfrage nach Weinen mit geringem Schwefeldioxidgehalt nimmt aber ständig zu, weshalb nach alternativen Antioxidantien und Bioprotektoren gesucht wird. Durch die Eisenbindung, den Sauerstoffverbrauch und die Hemmung anderer Mikroorganismen ist *M. pulcherrima* eine attraktive Hefe für diese Anwendung und bereits kommerziell erhältlich (Giménez et al., 2023; Lebleux et al., 2023; Windholtz et al., 2023). Mehrere Hersteller bieten solche *M. pulcherrima*-enthaltende Produkte für die Weinherstellung an. Der Einsatz von *M. pulcherrima* in der Weinherstellung kann auch zu Weinen mit geringerem Alkoholgehalt führen, was in vielen Fällen ein erwünschter oder angestrebter Effekt ist (Contreras et al., 2014; Guindal et al., 2023).

Bierherstellung

Je nach Quelle wird *M. pulcherrima* als «Spoilage yeast» oder als zusätzliche Hefe für die Bierherstellung beschrieben (Brewing, 2015). Wie bereits bei der Anwendung im Wein beschrieben, produziert *M. pulcherrima* nur geringe Alkoholmengen. Diese Hefe toleriert auch nur Alkohol-Gehalte von maximal 5 %. Für Biere mit geringem Alkoholgehalt und natürlich für alkoholfreie Biere ist dieser Faktor sehr interessant.

Zu erwähnen ist, dass nicht-*Saccharomyces* Hefen charakteristisch für spontan-fermentierte Biere wie Sauerbier oder Lambiek sind (Bokulich et al., 2012). Dies zeigt

auch, dass die Verwendung dieser Hefe sicher nicht für alle Biersorten geeignet ist. Ein Vergleich der Hefen *S. cerevisiae*, *T. delbrueckii* und *M. pulcherrima* zur Herstellung eines Gerste-Sorghumhirse Craft-Bieres hat gezeigt, dass alle drei Hefen wohlschmeckende und spezifische Aromaprofile produzieren können (Einfalt, 2021). Vašík und Co-Autoren (Vašík et al., 2022) beschreiben die Anwendung vom *M. pulcherrima* zur Herstellung von alkoholfreiem Bier. Für die Herstellung von Bier ist es von Vorteil, Maltose-negative nicht-*Saccharomyces* Hefen zu verwenden. Durch den Nicht-Abbau der Maltose produzieren diese Hefen keinen Alkohol, bringen aber durch die Herstellung von Estern und höheren Alkoholen trotzdem Aromen in das Bier. Andere nicht-*Saccharomyces* Hefen scheinen zwar besser zur Herstellung von Bier geeignet, aber *M. pulcherrima* könnte für spezielle Bier-Rezepturen oder für Biere mit geringem Alkoholgehalt eine interessante Option darstellen.

Eine weitere Anwendung von *M. pulcherrima* für Bier ist die sequentielle Fermentation mit *S. cerevisiae*. Sequentiell bedeutet, dass die Würze zunächst eine bestimmte Zeit mit der nicht-*Saccharomyces* Hefe inkubiert wird und erst danach die eigentliche «Bierhefe» zugegeben wird. Dabei geht es nicht um die Reduktion des Alkohol-Gehaltes oder die Herstellung von alkoholfreiem Bier, sondern um die Erweiterung des Aromaprofils. Es wurde beispielsweise ein *M. pulcherrima*-Stamm beschrieben, der dem Bier fruchtige Noten, aber auch eine erwünschte Bitterkeit verleiht (Postigo, Sanz, et al., 2022). Die Würze wurde hier zunächst fünf Tage mit dem ausgewählten Stamm fermentiert, bevor *S. cerevisiae* für die eigentliche Alkoholgärung zugegeben wurde. Der Einsatz eines ausgewählten Stammes hat einen starken Einfluss auf das endgültige Aroma des Bieres und kann so zum Geschmack einer Biersorte essentiell beitragen (Postigo, Sánchez, et al., 2022).

Brotherstellung

Diverse Getreidesorten werden zu Mehl verarbeitet und gelangen nach der Fermentation mit Hefen und/oder Milchsäurebakterien als Brot auf unseren Tisch. Es gibt noch wenig Studien zur Verwendung von nicht-*Saccharomyces* Hefen zur Brotherstellung. Ein Vergleich von 32 non-*Saccharomyces* Hefen bezüglich deren Potential zur Herstellung von Hefeteigen schloss ein *M. pulcherrima*-Isolat ein (Zotta et al., 2022). Den Autoren erschienen aber insbesondere *Hanseniaspora uvarum*-Isolate für die Brotherstellung am vielversprechendsten. Ein Vorteil der Verwendung von Hefen wie *Metschnikowia pulcherrima* sei die Reduktion von Aldehyden, welche für die Oxidation von Teigen verantwortlich sein könn-

ten. Wie auch beim Wein und Bier erweitern diese nicht-konventionellen Hefen ebenfalls die Aromavielfalt der Hefeteige.

Herstellung von Lipiden

Metschnikowia pulcherrima ist eine sogenannte Öl-Hefe, weil sie Fettsäuren bildet und 30–45 % ihrer Zellmasse in Form von Fetten speichern kann. Diese Eigenschaft ist von grossem biotechnologischem Interesse. Fettsäuren werden in der Lebensmittelindustrie in vielen Bereichen verwendet. Die ungesättigten Fettsäuren sind hierbei sehr interessant. Auch aus diesem Grund ist es interessant, Öl-Hefen zu nutzen, da diese dafür bekannt sind, Fettsäuren mit einem hohen Anteil an ungesättigten Fettsäuren herzustellen (Abeln & Chuck, 2019, 2021; Abeln *et al.*, 2020).

Palmöl hat in diesem Zusammenhang in den letzten Jahren auf Grund der grossen Plantagen, für die Regenwald weichen musste, einen schlechten Ruf erhalten. Es ist daher an der Zeit, einen nachhaltigen Ersatz dafür zu finden. Eine Möglichkeit hierzu ist die Verwendung von Öl-Hefen. *Metschnikowia pulcherrima* ist eine sehr interessante Kandidatin, da diese einfach und ohne sterile Bedingungen wachsen kann. Leider sind solche Prozesse noch immer kostspielig und werden deshalb kaum genutzt. Hier gibt es aber bereits Ansätze mit Nebenströmen und Abfallstoffen, die solche Prozesse attraktiver machen können (Longanesi *et al.*, 2022). Es wurde beispielsweise ein Prozess vorgeschlagen, um aus Sägemehl oder Brauerei-Abfällen mittels *M. pulcherrima* Fettsäuren zu gewinnen. Die Hefen erreichten einen Lipid-Anteil von 42 % (Longanesi *et al.*, 2020). Auch Fettabfälle aus Nebenströmen der Proteinproduktion aus Tieren wurden dazu verwendet, um mit verschiedenen *Metschnikowia*-Spezies Lipide herzustellen (Nemcova *et al.*, 2021). Tierfett war eine geeignete Kohlenstoffquelle und durch Zugabe von Glycerol konnte der Anteil an Fettsäuren in einem Hefestamm auf 36 % erhöht werden. Das verwendete Glycerol kann beispielsweise aus Nebenströmen der Herstellung von Bio-Treibstoffen stammen.

Die von *M. pulcherrima* (oder anderen Öl-Hefen) hergestellten Lipide können auch als Lagersubstrate zur Herstellung der oben erwähnten Bio-Treibstoffe verwendet werden. Durch eine gezielte Auswahl der Stämme sowie deren Kultivationsbedingungen können hier Grundlagen für spezifische Treibstoffe gebildet werden. Bereits 2014 wurde gezeigt, dass *M. pulcherrima* eine gute Kandidatin für die Herstellung von Bio-Treibstoffen ist (Santamauro *et al.*, 2014). Dank dem Wachstum bei tiefem pH und tiefer Temperatur sowie der Bildung antimikrobieller Substanzen ist es möglich, die Hefe unter nicht

sterilen Bedingungen wachsen zu lassen. Diese Eigenschaften führt zu einer wesentlichen Erleichterung der Herstellung und damit zu tieferen Kosten. Für die Herstellung von Biodiesel ist es besser, gesättigte Fettsäuren zu verwenden (Abomoro *et al.*, 2020). Dies wurde mit Hilfe eines Gemisches aus Lebensmittel-Abfall-Hydrolysat und Weichholz-Sägemehl als Substrat erreicht und in einem Prozess mit *M. pulcherrima* genutzt. Somit konnten Abfälle der Lebensmittelindustrie kombiniert und wertschöpfend genutzt werden.

2-Phenylalkohol

2-Phenylethanol ist eine chemische Verbindung mit starkem Rosenduft, die von einer Vielzahl von Pflanzen hergestellt wird (Lingappa *et al.*, 1969). Abgesehen von Rosenblüten kommt die Verbindung auch in Wurzeln, Blättern oder Blüten von Nelken- oder Kleearten, Pfefferminze, Weinreben, oder Tee vor. Der Duftstoff hat viele Anwendungen in der Lebensmittel- und Kosmetikindustrie.

M. pulcherrima, *S. cerevisiae* und viele weitere Hefen bilden ebenfalls 2-Phenylalkohol. Hefen stellen 2-Phenylalkohol entweder mit dem Shikimat- oder dem Ehrlich-Stoffwechselweg her (Mitri *et al.*, 2022). Letzterer wird besonders für die biotechnologische Produktion verwendet und basiert auf der Konvertierung von L-Phenylalanin, welches als einzige Stickstoffquelle zur Verfügung gestellt wird, zu 2-Phenylalkohol.

Die Verbindung ist nicht nur für den Menschen wohlriechend, sondern lockt vermutlich auch Insekten an. Ausserdem wirkt 2-Phenylalkohol antimikrobiell und ist somit Teil des Wirkmechanismus gegenüber Pflanzenpathogenen. In der Bäckerhefe *S. cerevisiae* und in der Biocontrol-Hefe *Debaryomyces nepalensis* wirkt Phenylalkohol ausserdem als Signalmolekül für die Biofilmbildung (Zhang *et al.*, 2021), welche auch einen Hemmmechanismus gegenüber anderen Mikroorganismen darstellt.

Biocontrol

Pflanzenschutzanwendungen sind unerlässlich, um die landwirtschaftliche Produktion zu sichern und die Erwartungen der Konsumierenden nach makellosem Obst und Gemüse zu erfüllen. Sowohl Gesetzgeber als auch die Konsumierenden verlangen aber nachhaltige Pflanzenschutzmethoden, die keine Rückstände auf dem Erntegut hinterlassen und keine negativen Effekte auf Menschen und Umwelt haben. Der Einsatz antagonistischer Mikroorganismen, z. B. von Hefen, ist eine mögliche und eine attraktive Alternative zu herkömmlichen Pflanzenschutzmitteln (Freimoser *et al.*, 2019).

M. pulcherrima wirkt äusserst hemmend auf andere Pilze und manche Bakterien (Hilber-Bodmer *et al.*, 2017). Zahlreiche Publikationen zeigen, dass *Metschnikowia* verschiedenste Keime wichtiger Pflanzenkrankheiten unterdrückt. Dazu gehören beispielsweise die Erreger der Graufäule (*Botrytis*), Moniliose (*Monilinia*) oder des Feuerbrands (*Erwinia amylovora*). Biocontrol-Anwendungen sind somit ein wichtiger Aspekt der Forschung zu *M. pulcherrima*, obwohl die Art bis jetzt noch nicht als Wirkstoff in einem kommerziellen Pflanzenschutzmittel verwendet worden ist. Eine nah verwandte Art, *M. fructicola*, ist jedoch seit Kurzem in Europa als Pflanzenschutzmittel registriert. Aufgrund der Ökologie von *Metschnikowia* stehen vor allem Krankheiten auf Blüten und Früchten als Ziele von Anwendungen im Vordergrund. Bei Agroscope wurden zu diesem Thema bereits über viele Jahre Feldversuche gegen Lagerkrankheiten beim Apfel durchgeführt (Bühlmann *et al.*, 2021). Neben grundlegenden Arbeiten zum Wirkmechanismus von

Metschnikowia möchten wir in Zukunft insbesondere die Formulierung der Hefe untersuchen, um die Lagerfähigkeit, die Verweildauer der Hefe auf der Pflanze und den Schutz gegenüber abiotischem Stress in der Anwendung zu verbessern. Dank unserer bereichsübergreifenden Zusammenarbeit können wir Produktions- und Lagerbedingungen im Labor entwickeln, direkt in Bioreaktoren anwenden und die gewonnenen Testpräparate unter Feldbedingungen testen.

Schlussfolgerungen

Dieser Artikel zeigt, dass *Metschnikowia pulcherrima* eine Hefe mit vielfältigen Anwendungen ist. Es ist zu erwarten, dass die Hefe in Zukunft eine noch breitere Bekanntheit erlangen wird. Aus diesem Grund wird bei Agroscope nicht nur über die Anwendung in BioControl geforscht, sondern auch in fermentierten Lebensmitteln. ■

Literatur

- Abeln, F., & Chuck, C. J. (2019). Achieving a high-density oleaginous yeast culture: comparison of four processing strategies using *Metschnikowia pulcherrima*. *Biotechnol Bioeng*, **116**(12), 3200-3214. <https://doi.org/10.1002/bit.27141>
- Abeln, F., & Chuck, C. J. (2021). The history, state of the art and future prospects for oleaginous yeast research. *Microbial Cell Factories*, **20**. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01712-1>
- Abeln, F., Hicks, R. H., Auta, H., Moreno-Beltrán, M., Longanesi, L., Henk, D. A., & Chuck, C. J. (2020). Semi-continuous pilot-scale microbial oil production with *Metschnikowia pulcherrima* on starch hydrolysate. *Biotechnology for Biofuels*, **13**, 127. <https://doi.org/10/ghcxww>
- Angelini, L. L., dos Santos, R. A. C., Fox, G., Paruthiyil, S., Gozzi, K., Shemesh, M., & Chai, Y. (2023). Pulcherrimin protects *Bacillus subtilis* against oxidative stress during biofilm development. *npj Biofilms and Microbiomes*, **9**(1), 50. <https://doi.org/10.1038/s41522-023-00418-z>
- Bokulich, N. A., Bamforth, C. W., & Mills, D. A. (2012). Breweryhouse-Resident Microbiota Are Responsible for Multi-Stage Fermentation of American Coolship Ale. *PLOS ONE*, **7**(4), e35507. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035507>
- Brewing, E. (2015). *Hello, my name is Metschnikowia pulcherrima*. <https://eurekabrewing.wordpress.com/2015/06/22/hello-my-name-is-metschnikowia-pulcherrima/>
- Bühlmann, A., Kammerecker, S., Müller, L., Hilber-Bodmer, M., Perren, S., & Freimoser, F. M. (2021). Stability of Dry and Liquid *Metschnikowia pulcherrima* Formulations for Biocontrol Applications against Apple Postharvest Diseases. *Horticulturae*, **7**(11), 459. <https://doi.org/10/gnbm46>
- Charron-Lamoureux, V., Haroune, L., Pomerleau, M., Hall, L., Orban, F., Leroux, J., Rizzi, A., Bourassa, J.-S., Fontaine, N., d'Astous, É. V., Dauphin-Ducharme, P., Legault, C. Y., Bellenger, J.-P., & Beauregard, P. B. (2023). Pulcherriminic acid modulates iron availability and protects against oxidative stress during microbial interactions. *Nature Communications*, **14**(1), 2536. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38222-0>
- Contreras, A., Hidalgo, C., Henschke, P. A., Chambers, P. J., Curtin, C., & Varela, C. (2014). Evaluation of non-*Saccharomyces* yeasts for the reduction of alcohol content in wine. *Appl. Environ. Microbiol.*, **80**(5), 1670-1678. <https://doi.org/10.1128/AEM.03780-13>
- Einfalt, D. (2021). Barley-sorghum craft beer production with *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* and *Metschnikowia pulcherrima* yeast strains. *European Food Research and Technology*, **247**(2), 385-393. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03632-7>
- Freimoser, F. M., Mahler, M., McCullough, M., Brachmann, A. O., Nageli, L., Hilber-Bodmer, M., Piel, J., Hoffmann, S. A., & Cai, Y. (2024). Heterologous pulcherrimin production in *Saccharomyces cerevisiae* confers inhibitory activity on *Botrytis conidiation*. *FEMS Yeast Res*, **24**. <https://doi.org/10.1093/femsyr/foad053>
- Freimoser, F. M., Rueda-Mejia, M. P., Tilocca, B., & Migheli, Q. (2019). Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World J Microbiol Biotechnol*, **35**(10), 154. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2728-4>
- Giménez, P., Just-Borras, A., Pons, P., Gombau, J., Heras, J. M., Sieczkowski, N., Canals, J. M., & Zamora, F. (2023). Biotechnological tools for reducing the use of sulfur dioxide in white grape must and preventing enzymatic browning: glutathione; inactivated dry yeasts rich in glutathione; and bioprotection with *Metschnikowia pulcherrima*. *European Food Research and Technology*, **249**(6), 1491-1501. <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04229-6>
- 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*. *Mol. Microbiol.*, **112**(1), 317-332. <https://doi.org/10/ggd674>
- Guindal, A. M., Morales, P., Tronchoni, J., & Gonzalez, R. (2023). Reduction of ethanol content in wine with an improved combination of yeast strains and process conditions. *Food Microbiology*, **115**, 104344. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104344>
- Hilber-Bodmer, M., Schmid, M., Ahrens, C. H., & Freimoser, F. M. (2017). Competition assays and physiological experiments of soil and phyllosphere yeasts identify *Candida subhashii* as a novel antagonist of filamentous fungi. *BMC Microbiol.*, **17**(1), 4. <https://doi.org/10/ggd673>
- Kluyver, A. J., Vanderwalt, J. P., & Vantriet, A. J. (1953). Pulcherrimin, the pigment of *Candida pulcherrima*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **39**(7), 583-593. <https://doi.org/10.1073/pnas.39.7.583>

- Lebleux, M., Alexandre, H., Romanet, R., Ballester, J., David-Vaizant, V., Adrian, M., Tourdot-Maréchal, R., & Rouiller-Gall, C. (2023). Must protection, sulfites versus bioprotection: A metabolomic study. *Food Research International*, **173**, 113383. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113383>
- Lingappa, B. T., Prasad, M., Lingappa, Y., Hunt, D. F., & Biemann, K. (1969). Phenethyl alcohol and tryptophol: autoantibiotics produced by the fungus *Candida albicans*. *Science (New York, N.Y.)*, **163**(3863), 192-194. <https://doi.org/10.1126/science.163.3863.192>
- Longanesi, L., Bouxin, F. P., Fan, J., Auta, H., Gammons, R., Abeln, F., Budarin, V. L., Clark, J. H., & Chuck, C. J. (2020). Scaled-Up Microwave-Assisted Pretreatment and Continuous Fermentation to Produce Yeast Lipids from Brewery Wastes. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **59**(44), 19803-19816. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c03463>
- Longanesi, L., Bouxin, F. P., Fan, J., Auta, H., Gammons, R., Budarin, V. L., Vriza, A., Clark, J. H., & Chuck, C. J. (2022). Valorisation of sawdust through the combined microwave-assisted hydrothermal pre-treatment and fermentation using an oleaginous yeast. *Biomass Conversion and Biorefinery*, **12**(7), 2487-2499. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00757-3>
- Lopandic, K., Prillinger, H., Molnár, O., & Giménez-Jurado, G. (1996). Molecular Characterization and Genotypic Identification of *Metschnikowia* Species. *Systematic and Applied Microbiology*, **19**(3), 393-402. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(96\)80068-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0723-2020(96)80068-3)
- Maicas, S., & Mateo, J. J. (2023). The Life of *Saccharomyces* and Non-*Saccharomyces* Yeasts in Drinking Wine. *Microorganisms*, **11**(5), 1178. <https://www.mdpi.com/2076-2607/11/5/1178>
- Mitri, S., Koubaa, M., Maroun, R. G., Rossignol, T., Nicaud, J.-M., & Louka, N. (2022). Bioproduction of 2-phenylethanol through yeast fermentation on synthetic media and on agro-industrial waste and by-products: a review. *Foods*, **11**(1), 109. <https://doi.org/10.3390/foods11010109>
- Nemcova, A., Szotkowski, M., Samek, O., Caganova, L., Sipiczki, M., & Marova, I. (2021). Use of waste substrates for the lipid Production by pastes of the genus *Metschnikowia*-screening study. *Microorganisms*, **9**(11). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112295>
- Ogbeide, O. K., Akhigbe, I. U., Unuigbo, C. A., Erharuyi, O., Imieje, V., O Benjamin, G., Ikeke, K., Ayeni, B., Irabor, E., Owolabi, J. B., & Falodun, A. (2021). Haematological and Biochemical Examination of *Pulcherrima* A isolated from *Caesalpinia pulcherrima* stem bark [Article]. *Tropical Journal of Natural Product Research*, **5**(11), 2011-2015. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v5i11.20>
- Postigo, V., Sánchez, A., Cabellos, J. M., & Arroyo, T. (2022). New Approaches for the Fermentation of Beer: Non-*Saccharomyces* Yeasts from Wine. *Fermentation*, **8**(6), 280. <https://www.mdpi.com/2311-5637/8/6/280>
- Postigo, V., Sanz, P., García, M., & Arroyo, T. (2022). Impact of Non-*Saccharomyces* Wine Yeast Strains on Improving Healthy Characteristics and the Sensory Profile of Beer in Sequential Fermentation. *Foods*, **11**(14), 2029. <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/14/2029>
- Santamauro, F., Whiffin, F. M., Scott, R. J., & Chuck, C. J. (2014). Low-cost lipid production by an oleaginous yeast cultured in non-sterile conditions using model waste resources. *Biotechnology for Biofuels*, **7**(1), 34. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-34>
- Troiano, E., Larini, I., Binati, R. L., Gatto, V., Torriani, S., Buzzini, P., Turchetti, B., Salvetti, E., & Felis, G. E. (2023). Finding a correct species assignment for a *Metschnikowia* strain: insights from the genome sequencing of strain DBT012. *FEMS Yeast Research*, **23**. <https://doi.org/10.1093/femsyr/foad024>
- Vašítk, P., Rosenbergová, Z., Furdíková, K., Klempová, T., Šišmiš, M., & Šmogrovi ová, D. (2022). Potential of non-*Saccharomyces* yeast to produce non-alcoholic beer. *FEMS Yeast Research*, **22**(1). <https://doi.org/10.1093/femsyr/foac039>
- Windholtz, S., Nioi, C., Coulon, J., & Masneuf-Pomarede, I. (2023). Bioprotection by non-*Saccharomyces* yeasts in oenology: Evaluation of O2 consumption and impact on acetic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, **405**, 110338. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110338>
- Zhang, D., Wang, F., Yu, Y., Ding, S., Chen, T., Sun, W., Liang, C., Yu, B., Ying, H., Liu, D., & Chen, Y. (2021). Effect of quorum-sensing molecule 2-phenylethanol and ARO genes on *Saccharomyces cerevisiae* biofilm. *Applied Microbiology and Biotechnology*. <https://doi.org/10/gjgkkt>
- Zhang, G., Zayed, H. M., An, Y., Yun, J., Huang, J., Zhang, Y., Li, X., Wang, J., Ravikumar, Y., & Qi, X. (2022). Biocatalytic conversion of a lactose-rich dairy waste into D-tagatose, D-arabitol and galactitol using sequential whole cell and fermentation technologies. *Bioresource Technology*, **358**, 127422. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127422>
- Zotta, T., Di Renzo, T., Sorrentino, A., Reale, A., & Boscaino, F. (2022). Selection of Non-*Saccharomyces* Wine Yeasts for the Production of Leavened Doughs. *Microorganisms*, **10**(9), 1849. <https://www.mdpi.com/2076-2607/10/9/1849>