

Б. П. АВАКЯН, Н. А. ТЕР-БАЛЯН

СЕЛЕКЦИЯ ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ МУТАГЕНОВ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА КРАСНЫХ ВИН

В проведенном исследовании изучено действие химических и физических мутагенов на винные дрожжи и установлена изменчивость культур в зависимости от примененной дозы.

В результате получен новый штамм винных дрожжей *Sacch. chodatii* М-3/75, который отличается от существующих высоким накоплением в вине (при брожении виноградного сусла по красному способу) дубильных и красящих веществ. Полученное вино отличается рубиновым оттенком, приятным вкусом и букетом.

Из спонтанной микрофлоры выделены ценные активные культуры винных дрожжей, которые применяются для сбраживания виноградного сусла. Однако в среде с высоким содержанием дубильных и красящих веществ не все культуры активны, поэтому возникла необходимость получить новые штаммы винных дрожжей, способные давать более интенсивно окрашенные виноматериалы.

Для получения активных штаммов микроорганизмов существуют различные способы: выделение микроорганизмов из природных источников, селекционный путь с применением различных мутагенов. Применение мутагенов физической и химической природы позволило получить новые активные формы микроорганизмов для различных отраслей народного хозяйства. Под влиянием этих мутагенов могут изменяться морфологические, физиологические и биохимические признаки микроорганизмов.

Мутагенное действие различного рода излучений и химических мутагенов связано с изменением ДНК. Спектр действия ультрафиолетовых лучей соответствует спектру их поглощения нуклеиновыми кислотами [5]. Облучение ультрафиолетом по сравнению с другими излучениями приводит к более специфическому химическому эффекту [6].

Комбинированное воздействие химическими и физическими мутагенами дает синергидный эффект мутагенного действия по отношению к каждому из этих мутагенов, взятых в отдельности [1].

Применение комбинированного воздействия химическими и физическими мутагенами дало возможность получить новый штамм *Sacch. vini* для шампанского виноделия [2]. Химический мутаген диметилсульфат (ДМС) — алкилирующее соединение, который метилирует фосфатные группировки ДНК [7].

Из сказанного следует, что селекция дрожжей в целях достижения биосинтеза определенных соединений имеет большое значение для

винодельческой промышленности. Поэтому получение винных дрожжей, сбраживающих среду с высоким содержанием дубильных и красящих веществ, чрезвычайно важно в практике виноделия.

Известно, что избыток таннидов и антоцианов неблагоприятно действует на развитие дрожжей и задерживает брожение. При брожении на мезге наряду с превращениями дубильных и красящих веществ происходит и их переход из твердых частей грозди в сусло и вино, которые обогащаются флавоноами, антоцианами, дубильными и другими веществами [4].

Установлено, что сразу после дробления винограда в сусле содержится минимальное количество красящих веществ (15—30 мг/л), так как основная их масса находится в кожце и лишь в процессе настаивания и брожения на мезге они постепенно переходят в бродящее сусло [3].

Целью настоящей работы явилось исследование условий обработки дрожжей химическими и физическими мутагенами с установлением их морфологической и биохимической изменчивости для получения активных штаммов с целью применения их при производстве красных вин.

Материал и методика. В качестве исходных культур были взяты *Saccharomyces chodati*, штамм—К-212, М-3 и *Saccharomyces vini*—Агавнатуи-2. Для обработки были использованы мутагены диметилсульфат (ДМС) и ультрафиолетовые лучи (УФ-лучи). Диметилсульфат применялся в разведении 1:5000. Экспозиция 30, 60 и 90 мин. Ультрафиолетовые лучи применялись в дозе 500 и 750 эрг/мм². Проводилась также обработка в комбинированном виде (УФ 250 эрг/мм²+ДМС—10 мин).

Эксперименты были поставлены на виноградном соке сорта Кахет (сахаристость 22,0%, титруемая кислотность 6,7 г/л). На 4-й и 8-й дни определялся остаточный сахар, а на 15-е сутки—содержание дубильных и красящих веществ.

Выросшие колонии исходных культур после обработки диметилсульфатом и ультрафиолетовыми лучами имели клеточные изменения. Измененные штаммы и контрольные культуры были внесены в пробирки с виноградным соком и проведено брожение. Через 3 дня выяснилось, что из всех полученных мутантов более активными по сбраживанию сахара оказались штаммы А-2/10, А-2/17 и М-3/19. В указанных вариантах по сравнению с контролем количество красящих веществ выше: А-2/10 на 4,3%, А-2/17—1,9%, М-3/19—3,0%. Находящиеся на второй ступени селекции указанные дрожжи были повторно обработаны мутагенами ДМС, УФ лучами и их комбинацией ДМС+УФ: ДМС.—1:5000—30, 60, 90 мин.; УФ-750 эрг/мм², 15 см от объекта; ДМС (1:5000) 10 мин+УФ 250 эрг/мм²).

После посева на чашки Петри (солодовое сусло+2% агар-агара) и трехсуточной выдержки в термостате (26—27°C) у обработанных вариантов определялись выживаемость и морфологическая изменчивость.

После микроскопических наблюдений клетки, отклонившиеся от контроля, на 5-й день переносились в пробирки с виноградным соком и твердыми частицами ягод. На 4-й день был определен остаточный сахар, а на 15-й—красящие вещества.

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований показали, что при внесении полученных новых штаммов А-2/10-5 и А-2/17-10 количество остаточного сахара в бродящем сусле меньше, а содержание красящих веществ, по сравнению с контролем больше (При М-3/19-16 также), соответственно на 7,0, 1,2 и 6,9%.

Установлена выживаемость дрожжей при обработке различными мутагенами (табл. 1). При разведении диметилсульфата 1:5000 и экс-

Таблица 1

Выживаемость дрожжей при обработке различными мутагенами

Варианты	Выживаемость, % при выдержке		
	ДМС 1:5000, 30 мин	УФ—750 эрг/мм ²	ДМС+УФ, 10 мин + 250 эрг/мм ²
А-2/10-5	26,07	14,7	3,55
А-2/17-10	25,9	0,34	0,5
М-3/19-16	1,7	0,16	—

позиции 30 мин выживаемость у *Sacch. chodati*, М-3/19-16, составляла 1,7%, при дозе УФ лучей 750 эрг/мм²—0,16%, а при комбинированной обработке рост не отмечался. Выживаемость у *Sacch. vini* Агавнатун-2/17-10 под воздействием диметилсульфата при той же выдержке составляла 25,9%, под воздействием УФ—0,34%, а при комбинированной обработке—0,5%.

Из каждого варианта выделено 50 колоний с дальнейшим внесением их в пробирки с сусликом на мезге и этими штаммами. Были определены остаточный сахар и содержание красящих веществ.

Выделены у М-3/19-16 шесть, у А-2/17-10—восемь, а у А-2/10-5—семь штаммов.

Содержание красящих веществ в пробах, полученных на новых мутантах, было высоким, а остаточный сахар, по сравнению с контролем и другими обработанными вариантами, составлял более низкий процент.

Проведены опыты с исходными и выделенными в течение селекции штаммами с целью установления относительного количества красящих и дубильных веществ в винах, полученных на дрожжевых культурах, находящихся в различных стадиях селекции (табл. 2).

Определялось также суммарное количество дубильных и красящих веществ в пробах, полученных на штаммах М-3/19-16-75, М-3/19-16-16-75, М-3/19-16, М-3/19, М-3 и *Sacch. chodati*, шт. к-212. А у *Sacch. vini*—Агавнатун-2 Эти соединения определены в образцах вин, полученных на дрожжах из следующих вариантов: А-2/17-10-249, А-2/17-10, А-2/17, Агавнатун-2, А-2/10, А-2/10-5 и А-2/10-5-444.

Выяснено, что наибольшее суммарное количество дубильных и красящих веществ обнаружено в варианте М-3/19-16-75. В образцах вин, полученных на дрожжах Агавнатун-2, суммарное количество дубильных и красящих веществ обнаружено при применении культур А-2/17-10-249 и А-2/17.

Полученный штамм М-3/19-16-75 и контрольный *Sacch. chodati*, шт. к-212 были испытаны на Даларском винзаводе. Опыт был заложен на винограде сорта Кахет (сахаристость—17,0%, титруемая кислотность—6,1 г/л), виноград обрабатывался по красному способу (брожение сусли на мезге). В дальнейшем два процента культуры М-3/19-

Таблица 2

Изменение состава виноградного сусла по дням брожения
с различными дрожжами

Варианты	Остаточный сахар, ‰		Спирт, об. ‰		Содержание красящих веществ, мг/л
	4-й день	8-й день	4-й день	8-й день	
М-3/19-16-29	12,8	7,0	6,0	9,23	160
М-3/19-16-33	12,1	7,0	6,38	9,23	170
М-3/49-16-53	15,1	9,1	4,66	7,95	145
М-3/19-16-57	15,1	8,6	4,66	8,16	200
М-3/19-16-75	14,1	7,8	5,25	8,60	200
М-3/19-16-143	13,6	7,6	5,6	8,92	145
А-2/17-10-178	10,5	6,4	7,35	9,73	130
А-2/17-10-188	11,0	6,9	7,10	9,29	145
А-2/17-10-208	11,6	6,6	6,75	9,58	185
А-2/17-10-220	10,0	6,3	7,55	9,79	115
А-2/17-10-249	11,0	6,5	7,10	9,66	185
А-2/17-10-263	11,3	6,3	6,94	9,79	145
А-2/17-10-283	10,9	6,4	7,15	9,73	160
А-2/17-10-298	11,0	6,3	7,10	9,79	160
А-2/10-5-327	10,3	6,1	7,44	9,92	160
А-2/10-5-334	11,0	6,5	7,10	9,66	145
А-2/10-5-394	11,4	6,1	6,88	9,92	110
А-2/10-5-414	10,5	6,1	7,35	9,92	115
А-2/10-5-426	10,5	6,2	7,35	9,86	90
А-2/10-5-444	11,4	6,3	6,88	9,79	185
А-2/10-5-452	10,9	6,4	7,15	9,73	160
М-3/19-16	14,2	7,5	5,18	8,98	185
М-3/19	14,7	8,1	4,87	8,56	170
М-3	12,9	6,6	5,95	9,58	145
Sacch. chodatii, шт.					
к-212	13,4	6,9	7,70	9,29	130
А-2/17-10	10,0	6,1	7,55	9,92	145
А-2/17	10,0	6,1	7,55	9,92	130
Sacch. vini-Агавна-					
тун-2	10,1	6,2	7,50	8,86	145
А-2/10	11,2	6,5	7,0	9,66	185
А-2/10-5	11,3	6,6	6,94	9,58	200

16-75 были внесены в чаны. Через 3 суток брожения сок отделялся от твердых частиц ягод винограда и перекачивался в бочки. На 2, 3 и 5-е сутки брожения и после 3-месячного хранения определялось содержание красящих веществ. Выяснилось, что на 2-й день брожения содержание красящих веществ в контроле и опытной пробе составляло 380 мг/л, на 5-й день у штаммов М-3/19-16-75 красящих веществ на 110 мг/л было больше, чем у контрольных. Через 3 месяца красящих веществ в пробе с М-3/19-16-75 было 550 мг/л, а в контроле—360 мг/л.

Таким образом, диметилсульфат и ультрафиолетовые лучи как мутагены действуют на основные признаки и изменчивость дрожжей *Sacch. chodatii*.

В результате получен новый мутант дрожжей штамм М-3/19-16-75, который отличается от контрольной культуры розоватым оттенком колонии (на твердой среде). Наряду с этим обнаружены и различия по биохимической активности. Применение этого штамма в практическом виноделии позволяет получить более интенсивно окрашенные крас-

ные вина, что можно объяснить большей активностью биосинтетической деятельности штамма.

Научно-исследовательский институт виноградарства,¹
виноделения и плодоводства МСХ АрмССР

Поступило 15.XII 1975 г.

Р. Պ. ԱՎԱԳՅԱՆ, Ն. Հ. ՏՅՐ-ՐԱՎՅԱՆ

ՄՈՒՏԱԳԵՆՆԵՐԻ ԿԻՐԱՌՄԱՄԲ ԳԻՆՈՒ ՇԱՔԱՐԱՍՆԿԵՐԻ ՍՆԼԵԿՑԻԱՆ ԿԱՐՄԻՐ ԳԻՆԻՆԵՐԻ ԱՐՏԱԴՐՈՒԹՅԱՆ ՀԱՄԱՐ

Ա մ փ ո փ ու մ

Գիտահետազոտական աշխատանքները տարվել են այն նպատակով, որ հնարավոր լինի ստանալ նոր շաքարասնկեր ներկանյութերով հարուստ կարմիր գինիների արտադրության համար: Փորձերը ցույց են տվել, որ դիմաթիլաուլֆատի 1:5000 նոսրացումը և ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների 500—750 էրգ/մմ² դոզան առաջ են բերում շաքարասնկերի մորֆոլոգիական, ֆիզիոլոգիական և բիոքիմիական փոփոխություններ: Երբ շաքարասնկերի վրա 30 բույս ազդում ենք 1:5000 նոսրացված ԴՄՍ, սպա նրանց կենսունակությունը հավասարվում է 25,9—26,07%: Իսկ ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներով 750 էրգ/մմ² դոզայի դեպքում կենսունակությունը հավասար է 0,34—14,70 օ/օ:

Կատարված աշխատանքների շնորհիվ հնարավոր է ստանալ մի քանի տեսակի մուտանտներ, որոնցից Մ—3/19—16—75-ը տարբերվում է մյուսներից իր բիոտինի կակտիվությամբ: Այդ կուլտուրան փորձարկվել է լաբորատոր և կիսաարտադրական պայմաններում կարմիր գինիների ստանալու համար: Այդ նպատակով փերցվել է Կախեթ սորտի խաղողը, որը խմորվել է փնչպես ըստ սովորույթի, այնպես էլ նոր ստացված մուտանտի կիրառմամբ:

Փորձերը ցույց են տվել, որ այն գինիները, որոնք ստացվել են Մ—3/19—16—75 շտամի օգտագործմամբ ունեն ավելի ինտենսիվ գույն և համի տեսակետից չեն զիջում ստեֆիլին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алахян С. И. Селекция промышленных микроорганизмов. Наука. М., 1968.
2. Алахян С. И., Налбандян Г. М., Авакян Б. П. Генетика, 7, 11, 93—107, 1971.
3. Валушко Г. Г. Биохимия и технология красных вин. 15, 1973.
4. Дурмишидзе С. В. Дубильные вещества и антоцианы виноградной лозы и вина. М., 1955.
5. Имшенецкий А. А. Тр. конф. по направленной изменчивости микроорганизмов, М., 1952.
6. Самоилова К. А. Действие УФ-радиации на клетку. 1967.
7. Соффер В. Н. Молекулярные механизмы мутагенеза. Наука. М., 1969.