

Қазақстан Республикасының Білім және ғылым министрлігі

әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті

БАЙКЕНОВА АҚЕРКЕ ҚАЙРАТҚЫЗЫ

**ҚОЛЖЕТІМДІ БИОАҚПАРАТТЫҚ ЗЕРТТЕУ ПЛАТФОРМАЛАРЫНДА
ШАРАП АШЫТҚЫЛАРЫНЫҢ МОЛЕКУЛАЛЫҚ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ
ЕРЕКШЕЛІКТЕРІН ТАЛДАУ**

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

5B070100 - "Биотехнология" мамандығы

Алматы 2022
Қазақстан Республикасының Білім және ғылым министрлігі
әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті

"Қорғауға жіберілді"

Кафедра меңгерушісі

доцент м.а.

Жунусбаева Ж.К.

Дипломдық жұмыс

Тақырыбы: «Қолжетімді биоақпараттық зерттеу платформаларында шарап ашытқыларының молекулалық-генетикалық ерекшеліктерін талдау»

5B070100 - "Биотехнология" мамандығы

Орындаған
4 курс студенті:

Байкенова А.Қ.

Ғылыми жетекшісі
профессор

Айташева З.Г.

Норма бақылаушы

Әлікүл А.Б

Алматы, 2022
МАЗМҰНЫ

	АНЫҚТАМАЛАР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР	7
	КІРІСПЕ.....	8
	НЕГІЗГІ БӨЛІМ.....	9
1	ӘДЕБИЕТКЕ ШОЛУ.....	9
1.1	Ашытқыларға жалпы сипаттама.....	9
1.2	Шарап ашытқылары және оның қасиеттері.....	14
1.3	Шарап ашытқыларының молекулалық-генетикалық ерекшеліктері.....	24
2	ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ.....	33
2.1	Зерттеу объектісі.....	33
2.2	Зерттеу әдістері.....	33
3	ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ МЕН ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ.....	35
3.1	Пальма шарабы ашытқыларына филогенетикалық талдау және олардың эволюциялық қатынастарын анықтау	35
3.2	Пальма шарабы ашытқыларының географиялық шығу тегі мен көздері.....	42
	ҚОРЫТЫНДЫ.....	45
	ҰСЫНЫС ЖӘНЕ ПІКІРЛЕР	46
	ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ	47
	ҚОСЫМША	55

АНЫҚТАМАЛАР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

NCBI – National Center for Biotechnology Information (Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы)

Genbank - барлық аннотацияланған ДНҚ және РНҚ тізбегі, сондай-ақ оларда кодталған ақуыздар тізбегі бар жалпыға қолжетімді деректер базасы.

ДНҚ – дезоксирибонуклеин қышқылы

РНҚ – рибонуклеин қышқылы

рРНҚ – рибосомалық РНҚ

тРНҚ – тасымалдаушы РНҚ

SNP - бірнуклеотидті полиморфизм

OPC – санаудың ашық рамкасы

ARS – автономды-репликациялық тізбек

CNV – хромосоманың белгілі бір сегментінің көшірмелерінің санындағы полиморфизм

Indel – нуклеотидтерді енгізу/делеция полиморфизмі

LTR – ретро элементтің ұзақ терминалды қайталануы

QTL – сандық қасиетінің локусы

КІРІСПЕ

Ашытқылар - бір жасушалы саңырауқұлақтардың аскомицеттер класына жатады. Цитология, биохимия, генетикада жүргізілетін әдістер және алғаш рет ашытқыларға жасалынып, тексерістен өткен. Нақтырақ айтсақ, ашытқылардың *Saccharomyces* тұқымдасы. Ашытқылар – митохондриялық геномда қалыпты дамуына кедергі жасайтын мутациялар түзілгенде өлмейтін, тек гликолиздің арқасында өмір сүруге қабілетті организмдер. Молекулярлық биологияда және генетикада модельдік объект ретінде біржасушалы саңырауқұлақтар кеңінен қолданылады. *Saccharomyces cerevisiae* - бүкіл геномдық ДНҚ тізбегі зерттелген алғашқы эукариот. *Saccharomyces* туысының геномы 17 хромосомадан тұрады. Ал жоғары эукариоттармен салыстырғанда оның құрамында қайталанатын ДНҚ 5% ғана болады. Геномның 95% бірегей гендермен ұсынылған. Бұдан шығатыны, ашытқыдағы гендердің максималды саны 5-7 мыңнан аспайды. 1925 жылы Г.А.Надсон мен С.Г.Филиппов генетикалық зерттеулер жүргізді, онда радиациялық мутагенез ашылды, модельдік объект – ашытқыда жүргізілді. Бұл зерттеулерде плоидтылықтың өзгеруімен ашытқылардың өмірлік циклінде ұрпақтар алмасуының болуы туралы дәлелдер зерттелді. Ғалымдар *Saccharomyces cerevisiae* аскоспораларында хромосомалардың гаплоидты жиынтығы болатынын, ал олардың спораларына немесе олардың ұрпақтарына тән конъюгациялануы сахаромицеттердің вегетативті кезеңіне тән диплоидты жиынтықты қалпына келтіруге әкелетінін анықтады. Көп ұзамай нан ашытқысы генетикалық зерттеулер үшін тамаша үлгі нысаны болды. Ашытқыларға жасалған алғашқы ғылыми тәжірибелерден бері бұл организмдердің генетикасы өте жылдам дамыды.

Теориялық және қолданбалы сипатта, биотехнологиялық өнеркәсіпте әрі қарай пайдалану үшін генетикалық түрлендірілген ашытқы штаммдарын жобалауға қатысты кем дегенде 1000 зерттеу жұмыстары жүргізілді. Ашытқыдағы гомологиялық рекомбинацияның арқасында кез келген таңдалған хромосомалық ДНҚ тізбегін ерікті түрде өзгертуге болады. Сонымен қатар, центромераның қысқа тізбегінің қосылуы және ДНҚ репликациясының шығу тегі есебінен мобильді жылжымалы элементтердің – бөлінетін ашытқы жасушаларының құрамында болатын рекомбинантты плазмидалардың құрамында хромосомалардың бөліктерімен әртүрлі манипуляцияларды жүргізуге болады.

Ашытқылардың генетикалық трансформациясының ашылуы зерттеушілерге гендерді клондау және гендік инженерия үшін құнды құрал берді. Трансформацияның арқасында гендердің реттелуін, сондай-ақ белоктардың құрылымы мен қызметі арасындағы байланыстарды, хромосомалардың құрылымын және жасуша биологиясының басқа да маңызды мәселелерін талдауға тиімді қолданылатын әдістер әзірленді. Белоктардың құрылысы мен қызметі, хромосомалардың құрылымы және жасуша

биологиясының басқа да маңызды сұрақтарға жауаптар табыла бастады. *Saccharomyces cerevisiae* ашытқысын нан пісіру, шарап жасау, сыра қайнату өндірісінде, алкоголь және ақуызды-витаминді препараттарды өндіруде қолдану, оларды биохимиялық, молекулалық-генетикалық және басқа зерттеулерге қол жетімділігі оларды басқа эукариоттарды, соның ішінде адамды зерттеуге арналған әмбебап және бірегей үлгі нысанына айналдырды.

Ашытқы трансформациясы гендік инженериядағы гендерді клондау үшін маңызды ғылыми жаңалық болып табылады. Осы рекомбинация әдісінің арқасында гендердің реттелуін талдау үшін, сонымен қатар белоктардың құрылымы мен қызметі арасындағы байланыстарды, ДНҚ, РНҚ құрылымын және жасуша биологиясының басқа да маңызды мәселелерін талдау үшін қолданылатын әдістер жасалды.

Осылайша, ашытқылар, атап айтқанда *Saccharomyces cerevisiae* түрі генетикалық зерттеулер үшін маңызды болып саналады. Зерттеудің генетикалық объектісі ретінде олардың бірқатар артықшылықтары бар. Біріншіден, бұл организмдердің өмір сүру ұзақтығы қысқа; екі-төрт күн және қысқа ашытқы өмірлік цикліне ие. Ашытқыда толық анықталған ДНҚ тізбегі бар, бұл да маңызды артықшылық және морфологиясы мен биологиясы жақсы зерттелген болып табылады. Геномында отыз екі хромосома бар. Геномның өлшемі небәрі 12 Мб. 6300 гомологиялық гендердің 11% адам геніне сәйкес келеді.

Зерттеу жұмысының өзектілігі: Шарап ашытқылары генетикалық зерттеулер үшін маңызды объект болып саналады. Қазіргі заманғы геномдық және постгеномдық биоакпараттық құралдарды қолдану ашытқы штамдарының фенотиптік әртүрлілігінің негізінде жатқан молекулалық айырмашылықтардың табиғатын, молекулалық-генетикалық деректер мен белгілі бір өндірістік көрсеткіштер арасындағы байланыстарды түсінуді айтарлықтай тереңдетеді. Мұндай зерттеу нәтижелері «классикалық» және заманауи әдістерді қолдана отырып, бағытталған іріктеу, жаңа штамдарды құру және шарап жасау технологияларын жетілдіру стратегияларын әзірлеуге ықпал ететіні анық.

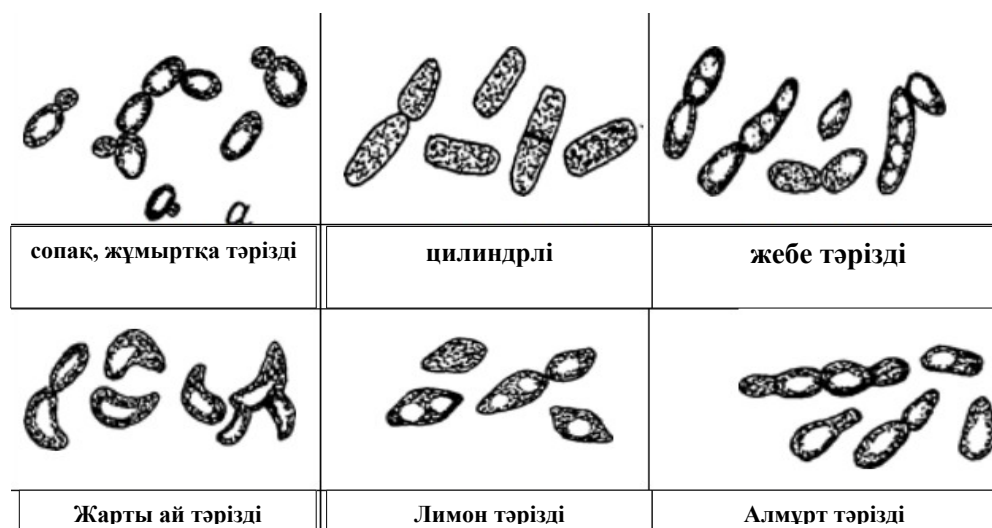
Ғылыми жаңалығы мен практикалық маңыздылығы: Алынған нәтижелерді шарап ашытқыларының геномикасы мен филогенетикасын сипаттауға және талдауға пайдалануға болады. Сонымен қатар, әртүрлі пальма ағаштардан алынған шарап ашытқыларын салыстыруға, туыстары басым болатын елдерді көрсетуге, эволюция мен түрлердің миграциясын зерттеуге пайдалануға болады.

НЕГІЗГІ БӨЛІМ

1 ӘДЕБИЕТКЕ ШОЛУ

1.1 Ашытқыларға жалпы сипаттама

«Ашытқы» термині ашытумен бірге жүретін құбылыстармен немесе процестермен байланысты. Ашытқы ағзаларының қызметтерін және ашыту процестерін көрсететін терминдердің ортақ шығу тегі адамдардың оларды бұрыннан байланыстырғанын көрсетеді. Ашытқылар – мицелий түзу қабілетін жоғалтқан және нәтижесінде айнала бастаған жоғары сатыдағы саңырауқұлақтар. Ашытқылар саңырауқұлақтар патшалығына (*Mycota*), нағыз саңырауқұлақтар бөліміне (*Eumycota*) жатады. Ашытқы жасушаларының пішіні сопақ, жұмыртқа тәрізді және эллипс тәрізді болып келеді. Цилиндрлік (таяқша тәрізді), алмұрт тәрізді және лимон тәрізді пішінді ашытқылар біршама сирек кездеседі (сурет 1).



Сурет 1 – Ашытқы жасушаларының пішіндері
(*С.В.Буряченко «Молекулярная генетика дрожжей сахаромицетов»
монографиясынан алынған)

Ашытқы жасушаларының өлшемдері диаметрі 2,5-тен 10 мкм-ге дейін және ұзындығы 4-тен 20 мкм-ге дейін болады. Орташа алғанда, ашытқы жасушасының салмағы шамамен 5×10^{-11} г. Ашытқы жасушаларының пішіні, мөлшері және массасы олар дамיתын орта жағдайларына және жасушалардың жасына байланысты өзгереді [1].

Ашытқылар саңырауқұлақтардан мәдени қасиеттерімен ерекшеленетіндіктен, Кудрявцева бойынша жеке классификациялар бар. Осы классификация бойынша ашытқылар *Ascomycetes* класына, біржасушалы саңырауқұлақтар қатарына жатады. Ашытқылар үш тұқымдастарды қамтиды:

сахаромицеттер, шизосахаромицеттер және сахаромикодтар. Олар бір-бірінен жасушалардың пішіні, вегетативті көбеюі бойынша ерекшеленеді.

1. *Saccharomycetae* тұқымдасы – бүршіктеніп көбейеді. Бұл тұқымдасқа *Saccharomyces* туысы жатады. Бұл тұқымдасының өкілдері сопақ немесе жұмыртқа тәрізді пішінді, бүршіктену арқылы вегетативті түрде көбейеді. Олар спорасының түзілуі және өнуі бойынша ерекшеленеді.

2. *Schizosaccharomycetaceae* тұқымдасы - бөліну арқылы көбейеді. Бұл тұқымдасқа екі туыс кіреді: шизосахаромицеттер (*schizosaccharomyces*) және октоспоромицеттер (*octosporomyces*).

3. *Saccharomycodaceae* тұқымдасы – көбеюі бүршіктенуден басталып, бөлінумен аяқталады. Бұл тұқымдастың негізгі туыстары – сахаромикодтар және хансениаспоралар [2, 3].

Saccharomyces cerevisiae жасушалары бүршіктену арқылы вегетативтік жолмен көбейеді. Алдымен аналық жасушада өсінді пайда болады, содан кейін ядроның митоздық бөлінуі жүреді, жасуша қабырғасының пайда болуы және жасушалардың бір-бірінен ажырауы жүреді. Аналық жасушада бүршіктенудің іздері пайда болады, бұл оның жасын анықтауға мүмкіндік береді. Әдетте аналық жасуша 20-30 рет бүршіктене алады. *Saccharomyces cerevisiae* ашытқысының қалыпты өмір сүруі үшін қоректік заттары бар сұйық орта, ортаның сәйкес реакциясы және температуралық жағдайлар қажет [4].

Ашытқыға әсер ететін сыртқы орта факторлары:

- физикалық (температура, ылғалдылық);
- химиялық (қоректік ортаның химиялық құрамы);
- биологиялық факторлар (микроорганизмдердің басқа организмдермен байланысы).



а)

б)

Сурет 2 - *Saccharomyces cerevisiae* ашытқысының жасушалары.

а) ашытқы жасушаларының бүршіктену арқылы белсенді көбеюі;

б) аналық (үлкен) және жас жасушалардың жұбы (аналық жасушаның бетінде алдыңғы бүршіктенудің «іздері» көрінеді).

(*С.В.Буряченко «Молекулярная генетика дрожжей сахаромицетов» монографиясынан алынған)

Гаплоидты және диплоидты жасушалардың өлшемдері әртүрлі штаммдарға және әртүрлі таралу жағдайларына байланысты өзгереді. Типтік диплоидты жасушалар 5 x 6 мкм эллипсоидтар, типтік гаплоидты жасушалар 4 мкм сфероидтар. Ашытқы жасушаларының мөлшері мен химиялық құрамы туралы жалпы мәліметтер төмендегі кестеде келтірілген [5].

Кесте 1 - Ашытқы жасушасының көлемі мен құрамы

Сипаттамасы	Гаплоидты жасуша	Диплоидты жасуша
Көлемі (мкм ³)	70	120
Ылғалды салмағы (пг)	60	80
Құрғақ салмағы (пг)	15	20
ДНҚ	0,017	0,034
РНҚ	1,2	1,9
Ақуыз	6	8

(*С.В.Буряченко «Молекулярная генетика дрожжей сахаромицетов» монографиясынан алынған)

Saccharomyces cerevisiae ашытқылары төменгі және жоғарғы ашытқылар болып екі топқа бөлінеді. Төменгі ашытқыларға шарап пен сыра ашытқыларының көпшілігі кіреді, ал жоғарғы ашытқыларға спирт, нан және кейбір сыра ашытқылары кіреді. Төменгі ашытқылар өндірісте 6-10 °С және одан төмен температурада (0 °С-қа дейін), ал жоғарғы ашытқылар әдетте 14-25 °С температурада белсенді болады. Ашу процесі аяқталғаннан кейін төменгі ашытқылар түбіне шөгіп, тығыз тұнба түзеді, үстіңгі ашытқылар бетіне қалқып шығып, «қалпақ» құрайды. Соңғысының бетіне көтерілу қабілеті бүршіктенгеннен кейін жасушалардың шағын тізбекте байланысып қалуына байланысты, көмірқышқыл газының көпіршіктері оларды бетіне көтереді.

Ашытқы құрамында белсендірілген протеолиз, трипептид, глутатион бар. Сонымен қатар түрлі витаминдер мен ферменттер де болады. Ашытқы құрамындағы ферменттер тыныс алу, көбею және жасуша мүшелерінің құрылысын қоса алғанда, олардың барлық өмірлік функцияларының ағымына ықпал етеді [6].

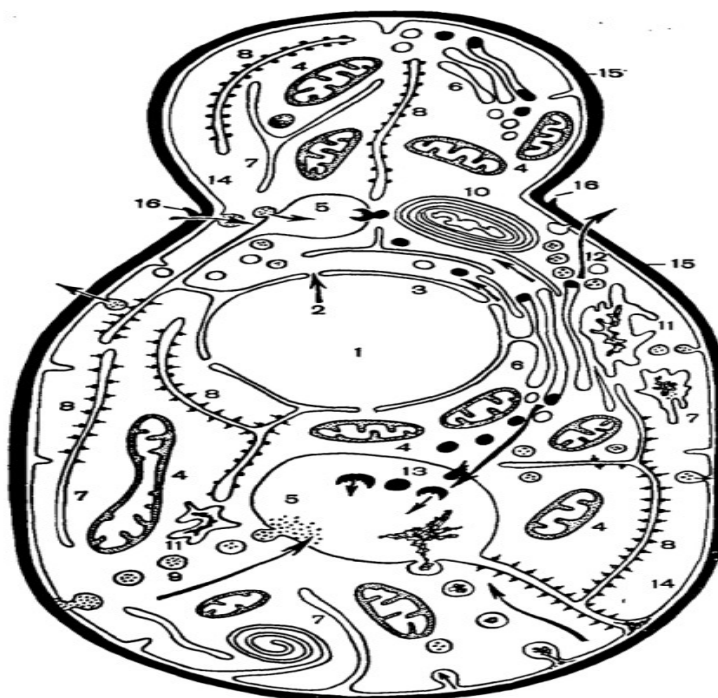
Ашытқыда бірқатар ферменттік кешендер жұмыс істейді, олардың негізгісі зимаза деп аталады. Зимазаның көмегімен ашытқы қантты ашытады, яғни оны спирт пен көмірқышқыл газына айналдырады. Сонымен бірге ашытқы жасушалары өміріне қажетті энергияны алады. Оттегі болмаған жағдайда (анаэробты жағдайда) ашытқы ферменттері қанттың спирттік ашуын тудырады. Бұл көптеген ферменттер мен фосфор қышқылын қамтитын он бір кезеңнен өтетін күрделі көп сатылы процесс. Қантты ашыту процесінің соңғы сатысында көмірқышқыл газы мен этил (шарап) спирті түзіледі [7].

Ашытқыларды өсіруге арналған сұйық ортада қант, азотты қосылыстар, минералды қосылыстар, витаминдер болуы керек. Нан ашытқысы глюкозаны, галактозаны, сахарозаны, рафинозаны, мальтозаны ыдыратады. Күрделі қанттар (сахароза, мальтоза) алдымен ферменттер мен ашытқылардың әсерінен жай қантқа айналады. Азотты қосылыстардың ішінен ашытқы белок гидролизінің өнімдерімен (амин қышқылдары, полипептидтер), сонымен қатар аммоний сульфаты сияқты құрамында азот бар минералды тұздармен жақсы сіңеді. Ашытқы орналасқан ортаның реакциясы аздап қышқыл болуы керек. Сілтілік орта ашытқы жасушаларын тежейді. Егер сілтілік жоғары болса, ашытқылар жасушасы өледі. Ортаның оңтайлы рН мәні 4,5-5,0.

Ашытқылардың тіршілік әрекеті үшін температуралық жағдайлардың маңызы зор. Ашытқылардың көбеюіне ең қолайлы температура 25-28 °С. Спирттік ашу процесі 30-35 °С температурада ең белсенді. 45-50 °С және одан жоғары температурада ашытқы жасушалары өледі. Төмен температура ашытқылардың тіршілік әрекетін тежейді, ашытқы анабиоз (жасырын тіршілік әрекеті) жағдайына түседі, онда ол ұзақ уақыт бойы бұзылмай сақталуы мүмкін.

Мұздатылған ашытқылар 6-8°С температурада баяу ерігеннен кейін өзінің қасиеттерін сақтайды [8, 9].

Ашытқы жасушасының құрылысы. Ашытқы жасушасы мембранадан, цитоплазмалық мембранадан және цитоплазмадан тұрады. Жасуша мөлшері орташа 8-10 мкм (3-сурет).



Сурет 3 – Ашытқы жасушасының құрылысы
(сурет интернет желісінен алынған www.lektsia.com)

1 – ядро; 2 – саңылау; 3 - мембрана; 4 - митохондриялар; 5 - вакуоль; 6 - Гольджи кешенінің мембраналары; 7 және 8 - тегіс және түйіршікті эндоплазмалық тор; 9 - пиноцитарлы көпіршіктер; 10 - сегрегациялық түйіршіктер; 11 - фагосомалар; 12 - экскреторлық көпіршіктер; 13 - липидті қосындылар; 14 - цитоплазмалық мембрана; 15 - жасуша жарғақшасы; 16 - бүршіктенген іздің сақиналы жотасы.

Жасуша жарғақшасы - жасуша пішінінің тұрақтылығын сақтауға және айтарлықтай осмостық қысымға (2 МПа дейін) төтеп беруге қабілетті тығыз, күшті және серпімді құрылым. Селективті өткізгіштігі бар мембрана жасушаға қоректік заттардың тасымалдануын және одан метаболикалық өнімдердің шығуын қамтамасыз етеді [10].

Цитоплазмалық мембрана тікелей жасуша қабырғасының астында орналасқан. Оның негізгі қызметі – жасушаға қоректік заттардың енуін және зат алмасу өнімдерінің шығарылуын реттеу. Мұнда кейбір ферменттер локализацияланады және жасуша қабырғасының бірқатар заттары мен компоненттерінің биосинтезі жүреді.

Цитоплазма күрделі коллоидты жүйе. Биосинтездің маңызды процестері цитоплазмада жүреді және генетикалық ақпарат сақталады. Оның құрамында органеллалар (митохондриялар, рибосомалар, ядро, эндоплазмалық тор және Гольджи аппараты) және вакуольдер бар.

Митохондриялар – құрамында ферменттер жүйесі, негізінен электрон тасымалдауы бар шар тәрізді немесе ұзартылған жасушаішілік органеллалар. Митохондрияның функцияларына энергия көзі болып табылатын тотығу реакциялары, АТФ синтез реакцияларының тізбегі бойымен электрондардың тасымалдануы және митохондриялық ақуыздардың бір бөлігінің синтезі жатады [11].

Рибосомалар белок пен РНҚ-дан тұратын дұрыс емес шарлар түріндегі ультрамикроскопиялық түйіршіктер. Рибосомалар ақуыздар мен ферменттерді синтездейді.

Ядро қабықпен қоршалған дөңгелек және сопақ көпіршіктің пішініне ие. Ядроның қызметі – жасушаның бөлінуі кезіндегі генетикалық ақпаратты сақтау және тасымалдау.

Эндоплазмалық ретикулум – әртүрлі заттар сыртқы қабықтан орталыққа қарай қозғалатын көптеген арналарды құрайтын күрделі мембраналық тор болып табылады [12].

Гольджи аппараты — эндоплазмалық тордың мембраналық жүйесімен байланысқан ең ұсақ жалпақ денелердің жинақталуы. Гольджи аппаратының рөлі жаңа мембраналарды жасау болып табылады. Сонымен қатар, ол қорғаныс функциясын орындайды - жасуша секрециясының өнімдерін сақтап және жойып отырады.

Вакуольдер жасушаның орталық бөлігін алады. Олар липопроteidті қабықшамен қоршалған жасуша шырынымен толтырылған. Вакуольдер осмостық қысымды реттеуге қатысады және әртүрлі тотығу-тотықсыздану процестерінің орны болып табылады. Вакуоль ашытқы жасушасының қартаюуы кезінде пайда болады, олардың құрамында қоректік заттар, қалдық өнімдер және резервтік заттардың түйіршіктері: валюта, гликоген, трегалоза, май болады [13-15].

1.2 Шарап ашытқылары және оның қасиеттері

Шарап ашытқылары жүзімнің бетінде табиғи түрде кездеседі. Олар негізінен *Hanseniaspora uvarum* түзген жидектерде жиі жеңіл жабын ретінде көрінеді. «Нағыз» шарап ашытқысы *Saccharomyces cerevisiae* түрі болып саналады, ол табиғатта 1000 жүзімнің 1-інде ғана кездеседі. Дегенмен, ашытқылардың бұл туысы басқалармен салыстырғанда этанолға төзімділікпен ерекшеленеді. Бұл көп жағдайда ол бәсекелестікте жеңіп, шарап ашыту процесінде басқа түрлердің пайда болуына әкеледі. Олар жүзімде кездесетін табиғи ашытқы консорциумдары болып табылады. Жүзім шырыны қанттарын ашытуға қатысады, шараптың пайда болуымен бірге жүретін биохимиялық

процестер жүзім шикізатының сапасымен бірге, шараптардың барлық сорттарын анықтайды. Қатаң бақыланатын жағдайларда ашыту процесін жүргізу үшін шарап өндірісінде таза мәдени шарап ашытқыларын оқшаулау әрекеттері жүргізіледі [16].

Шарап дайындау үшін жүзім жиналады және ұсақталады - құрамында 10-25% қанты бар шырын алынады. Ақ шараптарды өндіруде тұқым мен қабықтың (целлюлоза) қоспасы керектен бөлінеді. Қызыл шарап өндірісінде сүйектері мен қабықтың қоспасы жойылмайды. Содан кейін ашыту нәтижесінде қант спиртті этанолға айналады. Шараптың пісіп жетілуі кезінде ашытқылардың екіншілік метаболиттері, сондай-ақ олардан алынатын қосылыстар оның хош иісі мен дәмін анықтайды, сүт қышқылды бактериялар, мысалы, *Oenococcus oeni* пісетін кезде де үлкен маңызға ие. Бірқатар шараптарды алу үшін (мысалы, аққайнар) ашытылған шарап екінші рет ашытылады.

Ашытуды тоқтату қант қорының (құрғақ шарап) таусылуымен немесе ашытқы үшін этанолдың уыттылығының шегіне жетуімен байланысты. *Saccharomyces beticus* ашытқысының кәдімгі ашытқылардан айырмашылығы (ерітіндідегі спирт концентрациясы 12% жеткенде өледі) төзімді болуында. Бастапқыда херес ашытқылары тек Испанияның оңтүстігінде (Андалусияда) белгілі болды, онда олардың қасиеттерінің арқасында күшті шарап алынды. Уақыт өте келе, херес ашытқылары Арменияда, Грузияда, Қырымда т.б. елдерде пайда болды. Херес ашытқысы кейбір күшті сыра өндірісінде де қолданылады.

Нан, шарап және сыра адамға белгілі ең көне өнімдер болып табылады, оларды өндіруді *Saccharomyces* ашытқысынсыз елестету мүмкін емес. Жүзім шаруашылығы мен шарап жасау тарихы мыңдаған жылдардан басталады және адамзат тарихымен тығыз байланысты. Күріш, бал және жеміс-жидек негізінде ашытылған сусындарды өндіру технологиясының пайда болуының ең алғашқы археологиялық дәлелі Қытайда біздің дәуірімізге дейінгі 7000 жылдан астам уақытқа жататын қабірлерден табылған [17].

Шарап жасаудың басталуын растайтын химиялық талдау деректері біздің дәуірімізге дейінгі 5400 жылға жатады, ал ашытқылардың шарап ашыту процестеріне қатысуы туралы деректер Ежелгі Египетте – б.з.б. 3150 ж. Мысыр мен Месопотамиядан ашытылған сусын технологиясы Еуропаға, содан кейін Жаңа әлемге тарады. Спирттік ашыту процестеріндегі ашытқылардың рөлін Пастер 1860 жылы анықтаған. 1980 жылдардың басында Карлсберг зертханасынан Эмиль Кристан Хансен алғаш рет таза ашытқы культурасын алды, содан кейін ол шарап шырынын ашыту үшін егу ретінде пайдаланылды. Бір қызығы, бұл тәжірибе тек 20 ғасырдың ортасынан бастап тиімді түрде тарала бастады, ал қазір әлемдегі барлық коммерциялық шарап өндірісі бастапқы дақылдарды пайдалануға негізделген. Мұқият іріктелген коммерциялық ашытқы штаммдарын пайдалану шарап ашыту процестерінің бақыланатындығы мен сенімділігін, шараптың микробтық құрамының шектелген өзгергіштігін айтарлықтай жақсартты және соңғы онжылдықтарда шарап сапасын жақсартуға айтарлықтай үлес қосты [18].

Ашытқыларды шарап жасауда және дәстүрлі биотехнологияның басқа салаларында кеңінен қолдану бұл микроорганизмдерді генетика, биохимия, жасуша биологиясы, физиология, геномика және эволюциялық биологиядағы зерттеулердің алдыңғы қатарына шығарды. Ашытқыларды өсірудің қарапайымдылығы мен ыңғайлылығы, гендік және гендік инженерлік манипуляциялардың қарапайымдылығы және басқа да бірқатар артықшылықтар ашытқыны эукариоттық жасушада болатын барлық негізгі процестерді зерттеудің сүйікті үлгі объектісіне айналдырды. 1996 жылы *Saccharomyces cerevisiae* нан ашытқысының геномының секвенирленуі геномикада бетбұрыс болды, алғаш рет эукариоттық геномның экспрессиясы мен қызметін жаһандық зерттеу мүмкіндігін ашты, сонымен қатар, салыстырмалы, функционалдық және эволюциялық геномикадағы зерттеулерге үлес қосты [19].

Геномдық секвенирлеу әдістерінің қарқынды дамуы сахаромицеттердің табиғи, өнеркәсіптік және клиникалық изоляттарының декодталған геномдарының санының күрт өсуіне әкелді және *S. cerevisiae* ашытқыларының әртүрлілігі, шығу тегі және табиғи тарихы туралы түсінігімізді айтарлықтай кеңейтті. Бұл зерттеу жұмысында сахаромицеттердің шарап штаммдарының геномдарын ашу саласындағы соңғы жетістіктерді жалпылауға, жасанды іріктеу жағдайында ашытқы геномының эволюциясының механизмдерін зерттеу үшін салыстырмалы геномиканы қолдануға, геномдық және постгеномдық тәсілдерді қолдануға тырысамыз. Шарап жасау үшін маңызды коммерциялық *Saccharomyces* штаммдарының сипаттамаларының молекулалық табиғатын анықтау жүзеге асады.

Шарап өндірісінде негізінен *Saccharomyces* тұқымдасының ашытқылары қолданылады. Оларға бірқатар талаптар қойылады, оның ішінде спиртке төзімділік (көлемі 16,0% дейін) және спирт түзу қабілеті, ашыту энергиясының жоғарылығы, сульфит пен суыққа төзімділік [20, 21].

Өзінің дамуында шарап ашытқысы төрт негізгі кезеңнен өтеді. Арығу фазасы шарап ашытқысының таза дақылы міндетті - қоректік ортаға енгізілген сәттен басталады. Бұл фазада жасушалардың субстратқа бейімделу процесі жүреді және олардың көбеюі болмайды, ал жасушалардың мөлшері ұлғаяды.

Шарап ашытқысының келесі фазасы – логарифмдік фаза. Бұл фаза жасуша популяциясының көбеюімен және биомассаның ұлғаюымен, ашытқылардың көбеюінің максималды жылдамдығымен сипатталады. Сонымен қатар, бұл кезеңде жасушалардың теріс сыртқы жағдайларға төзімділігі артып, спирттік ашу басталады.

Келесі кезең - стационарлық, бұл кезеңде ашытқы жасушаларының өсуі тоқтап, спирттік ашу процесі қарқынды жүреді. Шарап ашытқысының дамуының соңғы кезеңі - өсудің әлсіреу кезеңі. Ашытқының биомассасы интенсивті автолизден және ашытқылардың резервтік заттарды пайдалануынан азаяды [22-25].

Шарап ашытқыларының түрлері. Шарап жасауда спирттік ашытудың қоздырғышы ашытқылар болып табылады. Олардың алмасуы кейбір заттардың

(қанттардың) басқа заттарға (спирттер, көмірқышқыл газы, күрделі эфирлер, альдегидтер, диацетил және т.б.) айналуына негізделген. Ашытқы жасушаларының диаметрі 1-8 мкм, ұзындығы 2-12 мкм жетеді. Жүзімнен шарап ашытқысының культуралары бөлініп алынады. Жүзім шырыны ашытылады, оны ашытатын затты «шарап ашытқысы» деп атайды.

Шарап жасауда үлкен рөл атқаратын шарап ашытқыларының ең көп тараған тұқымдары мен түрлері *Saccharomyces vini* болып табылады. Олар белсенді түрде көбейеді және жоғары ашыту белсенділігіне ие, сонымен қатар қоршаған ортаға тез бейімделеді. Ашу процесі кезінде түзілетін спирт мөлшері 20% , қант мөлшері 11,6-12% құрайды [27].

Saccharomyces oviformis ашытқысы суслодағы қанттарды толығымен дерлік ашытады және 18% спиртті жинақтай алады. Бұл түрдің алуан түрі - барлық херес ашытқылары және кейбір аққайнар ашытқыларында қолданылады, олар шараптың бетінде пленка түрінде пайда болады.

Шарап жасауда *Brettanomyces* сияқты шарап ашытқыларының түрлері кеңінен қолданылады. Оларды өсіру үшін оңтайлы температура 31-32 °C аралығында өзгереді. Жүзімді ашыту кезінде олар 11-12% көлемді этил спиртті жинайды. Сонымен қатар, шарап ұшпа қышқылдармен байытылған. Аққайнар өндірісінде *Brettanomyces* көбеюі үшін қолайлы орта циркуляциялық шарап материалы болып табылады. Шараптардың әртүрлі түрлерін жасауға қойылатын талаптарды ескере отырып, іріктеу арқылы іріктеліп алынған белгілі бір туыстың бір жасушасының ұрпағы ашытқылардың таза дақыл болып табылады. Шарап ашытқыларының барлық туысы бір-бірінен ашыту белсенділігімен, көбею жылдамдығымен, термиялық және суыққа төзімділігімен, қышқылға төзімділігімен, сульфиттерге төзімділігімен, көбік түзу қабілетімен, ашытудан кейінгі шарап материалдарының мөлдірлену жылдамдығымен, спирт түзілу қабілетімен, қайталама және жанама өнімдердің жиналуымен ерекшеленеді.

Биотехнология талаптарына және шарап материалдарын өндіру шарттарына сәйкес шараптың белгілі бір түріне ерекшелігіне қарай сәйкес келетін ашытқы туыстарын пайдалану қажет. Сонымен, шарап және аққайнар өндіру үшін осы шарап жасау аймағында оқшауланған жергілікті таза ашытқы дақылдарын қолдану ұсынылады. Феодосия I-19 туысы жүзім шырынын белсенді түрде ашытады. Оның құрамында қанттың 24% мөлшері болады және жасуша белсенділігінің кең температуралық диапазонына ие. Бұл дақыл сульфидке төзімді, яғни құрамында 200-250 мг/дм³ күкірт диоксиді бар суслонь ашытады. Суслонь ашытуын күшейту үшін енгізілген таза ашытқы жасушаларының саны суслодағы жабайы ашытқы жасушаларының санынан көп болуы керек. Тәжірибеде жүзім шарты қанағаттанарлық тұндырылғаннан кейін зарарсыздандырылған күйде ашытылады. Сонымен бірге әрбір миллилитр суслода *Saccharomyces vini* түрінің ондаған мың ашытқы жасушалары болады [28,29].

Таза дақыл ашытқысының биотехнологиясы оны зарарсыздандырылған жүзім шырынына енгізген кезде жабайы ашытқыларға қарсы әрекет

ететіндігімен сипатталады, олар тезірек көбейеді, қоршаған ортаға бейімделеді және енгізілген таза дақылдан сәтті аман қалады.

Осылайша, шарап жасаудың практикалық жағдайында ашытудың бұл түрін пайдалану тиісті нәтиже бермейді, сондықтан әлемнің көптеген шарап жасаушы елдерінде таза ашытқы дақылдары, әдетте, бастапқы шарап жасауда пайдаланылмаған. Шарап ашытқыларының өміршең туыстары шарап өсіретін аймақтарда табиғи түрде оқшауланған болып табылады. Арнайы таза ашытқы культурасын стерильді емес суслоға енгізу тек титрленетін қышқылдығы жоғары, қант мөлшері немесе шамадан тыс сульфатты сусло өндіріске енуі қажет болған жағдайда ғана міндетті болып табылады. Төмен немесе жоғары ашыту температураларында суыққа төзімді немесе ыстыққа төзімді шарап ашытқыларының туыстарын пайдалану керек, сондықтан әрбір бастапқы шарап зауытында өңдеу маусымының басына қарай ашытқылар тұқымдарының жиынтығы болуы керек.

Асханалық шарап материалдарын өндірудегі биотехнологиялық процестер белсенді құрғақ ашытқы препараттарында сәтті жүргізілуде. Бұл шараптың көп мөлшерін дайындау құнын айтарлықтай төмендетеді, қанттың тереңірек ашытуын қамтамасыз етеді және шарап материалдарының сапасын жақсартады [30-33].

Іс-әрекеттің және қасиеттерінің ерекшеліктеріне байланысты шарап ашытқылары келесі негізгі топтарға бөлінеді:

- тағайындалуы бойынша: қызыл және ақ шараптар, аққайнар, сидр, херес және т.б.;

- тез және баяу ашытындар - ашу ұзақтығы органолептикалық қасиеттерге де, шарап дайындау жылдамдығына да әсер етеді. Сонымен қатар, жылдам ашу процесі әрқашан оң нәтиже бола бермейді, кейде оны ұзағырақ ашыту және күрделі қосылыстармен байыту талап етіледі;

- ыстыққа және суыққа төзімді - басқа ұқсас штамдар өлетін немесе тоқтатылған анимация күйіне өтетін температура диапазонына төтеп бере алады;

- спиртке төзімді - шарап штамдарының көпшілігі 12-14% спирттің құрамында жұмысын тоқтатады, бірақ кейбір туыстар 16% немесе одан да көп этанол концентрациясына төтеп бере алады. Спиртке төзімді түрі негізінен херес және басқа нығайтылған шараптарды дайындау үшін қолданылады.

- ашытудың қайталама және жанама өнімдерін жинақтау - белгілі бір штаммның ашытуы кезінде пайда болатын бұл қосылыстар мен заттар, олар жас шараптардың хош иісі мен дәміне айтарлықтай әсер етеді;

- қышқылға төзімді - суслоның қышқылдығы жоғары болса қолданылады;

- ашытқылардың басқа да қасиеттері: көбікке төзімді, сульфитке төзімді, шарап материалдарын тез тазартуға қабілетті және т.б. [34].

Тәжірибеде ең алдымен болашақ сусынның сипаттамаларын анықтайды, содан кейін ашытқылардың сәйкес түрін таңдайды. Жүзім шараптары үшін жидектердің түсіне (ақ немесе қызыл) ғана емес, сонымен қатар, мүмкін болса, белгілі бір жүзім сорты үшін ашытқыларды қолданған жөн. Алма шараптары

үшін алма қышқылының жоғары концентрациясын өңдеуге қабілетті шарап ашытқысы өте қолайлы. Басқа жеміс немесе жидек шикізаты үшін (шие, қарақат, құлпынай, таңқурай, өрік, қарлыған және т.б.) кез келген бейтарап (эмбебап) штаммдарды қолдануға болады. Ең дұрысы, шырын ашық түсті болса - ақ шараптар үшін, күңгірт болса – қызыл шарап үшін қолданады [35, 36].

Пальма шарабы. Пальма шарабы негізінен Сахараның оңтүстігіндегі Африкада, Азия мен Оңтүстік Американың бөліктерінде тұтынылатын дәстүрлі сусын болып табылады. Оны әртүрлі пальма ағаштарының шырынын ашыту арқылы алады. Пальма ағаштары тропиктік және субтропикалық аймақтарда өседі, қоңыржай аймақтарда аз ғана түрлері кездеседі. Бұл сусынды «күю» әдісі арқылы жасайтыны көптеген мақалаларда сипатталған және пальма шырынының дәмі мен түсі әртүрлі географиялық жерлерде өсетін пальмаға байланысты өзгеріп отырады. Ашытқылар сусынның ашуына қатысатын негізгі организмдер болып табылады және олар пальмаларда табиғи флора ретінде өмір сүреді. Пальманың қайнар көзіне қарамастан, сусынның жалпы ерекшелігі - ол тоңазытқышта сақталмаса, 24 сағат ішінде қышқылдана бастайды. Нигерияда негізінен пальма шарабы жиналатын екі ағаш - *Raphia hookeri* және *Elaeis guineensis*. Бұл пальмалардың шығу тегі туралы пікірталастар бар. *Raphia hookeri* ағашы шарап пальмасы ретінде белгілі және Батыс пен Орталық Африканың тұщы су батпақтарында ең көп таралған. Көптеген жергілікті сорттар Нигерияның тропикалық ормандарында бар және олар Үндістанда, Малайзияда және Сингапурда да өсіріледі. Майлы пальма сорты *E. guineensis* бүкіл әлемде кеңірек таралған. Деректерге сүйенсек, *E. guineensis* пальмасы Батыс Африканың тропикалық орман аймағында пайда болғанын және Камерун, Кот-д'Ивуар, Гана, Либерия, Нигерия, Сьерра-Леоне, Того, Ангола және Конгода кездесетінін көрсетті. XIV-XVII ғасырлар арасында пальма жемістерінің біразы Америкаға, одан Қиыр Шығыста өсірілетін болған [37-39].

Ашытқылар адамзат тарихын көрсететіні белгілі, сондықтан пальма шарабында табылған ашытқы штамдары жаңа аймақтарға сол жерлерге әкелінген өсімдік материалдары арқылы енгізілген болуы мүмкін. Ашытқының жүздеген жылдар бұрын тағамдар мен сусындарды ашыту үшін пайдаланғаны белгілі болғанымен және қолға үйрету микробтар ашылғанға дейін басталған деп есептелсе де, генетикалық әртүрліліктің ауқымы әлі де бүкіл әлемде зерттелуде. Соңғы зерттеулер *Saccharomyces* емес ашытқылардың *S. cerevisiae* ашытқыларынан әртүрлі онологиялық қасиеттері бар екенін көрсетті. Көптеген зерттеулер *S. cerevisiae*-нің биохимиялық және геномдық қасиеттерін түсінуге көмектескенімен, ашытқы түрлері толық қамтылмағанын көрсетеді. Пальма шарабындағы *S. cerevisiae* және *S. cerevisiae* емес ашытқылар туралы көбірек түсіну сусындағы ашытқылардың әлеуеті туралы көбірек ақпарат алу немесе жаңа түрлерді ашу үшін қажет. Қосымша ақпарат алу үшін көптеген зерттеушілер молекулалық сипаттаманы қолданды және бұл сусынның жаңа ашытқы штамдарын дұрыс анықтауға әкелді. Пальма шарап ашытқыларының алуан түрлілігі жан-жақты зерттелмеген және әдебиеттерде организмдер арасындағы қарым-қатынастарды орнату үшін қажетті негізгі құрылымдар

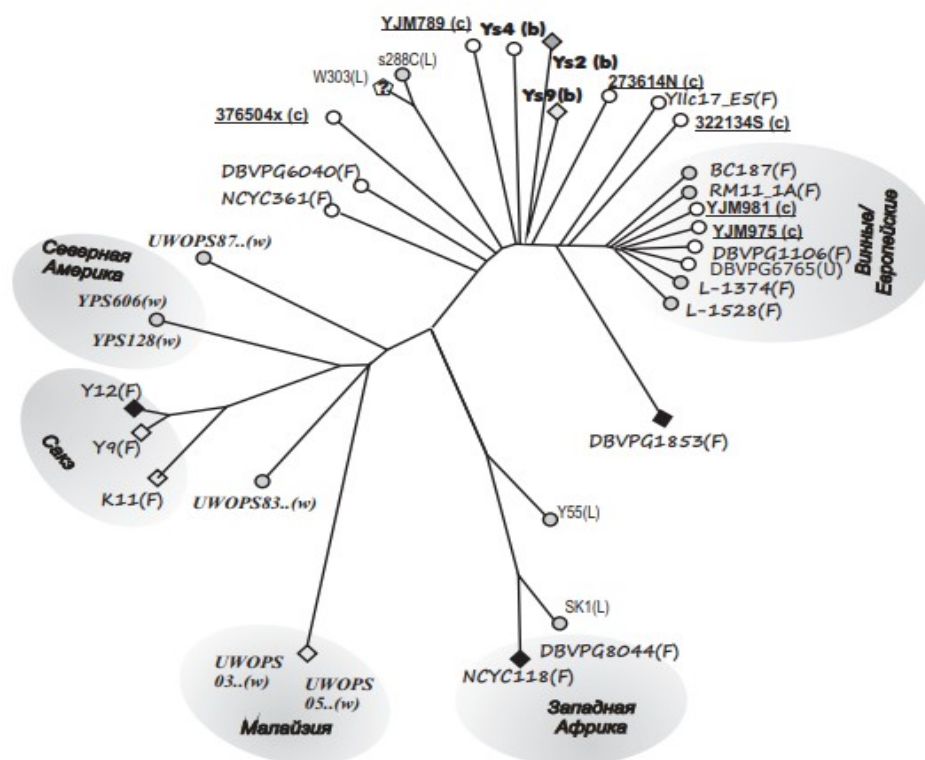
болып табылатын эволюциялық ағаштарды көрсететін есептер аз. Бұл зерттеу жұмысында пальма шарап ашытқыларының және олардың жақын туыстарының 26S rRNA реттілігі деректеріне негізделген эволюциялық қарым-қатынастары қарастырылады және сусындардағы ашытқылардың әртүрлілігіне көбірек көңіл бөлуге бағытталған [40, 41].

Шарап штамдарының шығу тегі. *S. cerevisiae* гапло-диплоидты тіршілік циклімен және көбеюдің негізінен вегетативті тәсілімен сипатталады. Табиғи мекендеу орындарынан оқшауланған штаммдардың көпшілігі гетерозиготалық деңгейі айтарлықтай жоғары диплоидтар. Гетерозиготалы SNP жиілігі бір геномға 1000-нан 18000 SNP-ге дейін болуы мүмкін, бұл шарап штаммдарын жасанды іріктеу жағдайында жиі болатын айқасу және жыныстық көбею процесстерінің көрінісі болуы мүмкін [42].

Соңғы жылдардағы көптеген зерттеулер *S. cerevisiae* популяциясының құрылымы мен эволюциялық тарихын терең түсінуге мүмкіндік берді. *S. cerevisiae*-нің «мәдени» штаммдары тәуелсіз «үйлестіру» оқиғаларының нәтижесінде табиғи арғы тегінен пайда болғаны көрсетілді. Сонымен қатар, шарап штаммдарының 95% бір филогенетикалық кластерге жатады, бұл олардың бірегей шығу тегі мен адам әрекетінен кейінгі популяцияның кеңеюін болжайды.

Дүние жүзіндегі әртүрлі географиялық аймақтардан алынған *S. cerevisiae* изоляттарының геномдық талдауының негізінде шығу орны бойынша да, технологиялық сипаттамалары бойынша да ерекшеленетін 5 негізгі филогенетикалық топ анықталды (сурет 4). Сондай-ақ осы топтардың өкілдерінің арасындағы айқасу нәтижесінде пайда болған мозаикалық геномы бар көптеген штаммдар анықталды. Тізбектелген штаммдардың генотиптері мен олардың эксперименталды түрде анықталған фенотиптік сипаттамалары арасындағы тұрақты корреляцияны байқауға болатыны маңызды.

Шағын популяциялардағы ашытқылардың генетикалық зерттеулері, жалпы алғанда, олардың құрылымы әртүрлі экологиялық тауашаларға бейімделуді қажет ететінін көрсетті. Сонымен бірге шарап штамдары өзгергіштік дәрежесі төмен жеке филогенетикалық топты құрайды [43, 44].



Сурет 4 - Ашытқылардың филогеномикасы. *S. cerevisiae* ашытқысының әртүрлі географиялық және экологиялық аймақтардан оқшаулануын көрсететін филогенетикалық ағашы.

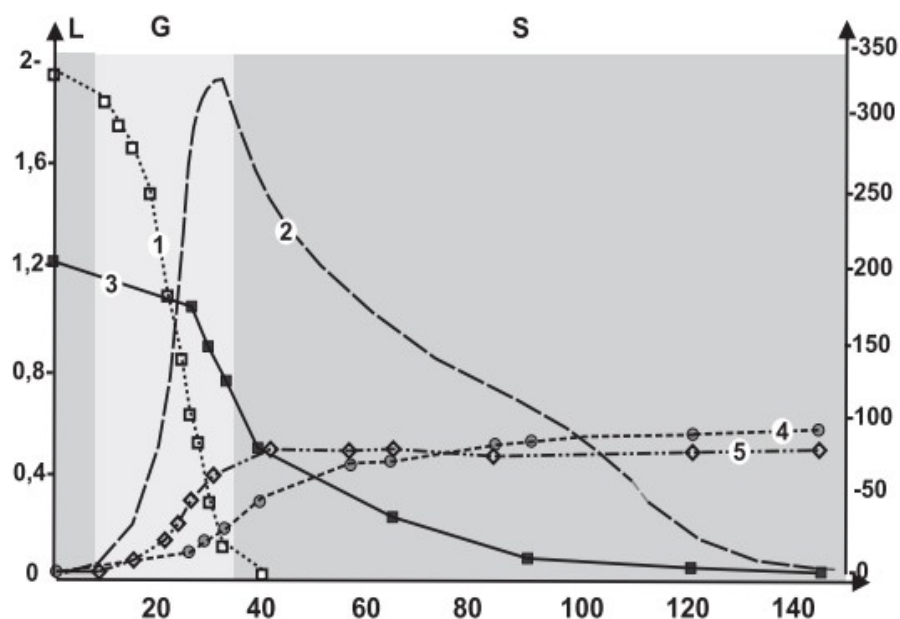
(*М.А.Эльдаров және т.б. авторлар еңбегінен алынған)

«Таза» мозаикалық емес сызықтар сұр түспен белгіленген. Географиялық тиесілігі – ақ шеңберлер – Еуропа, сұр сопақ – Америка, сұр ромбы – Азия, қою сұр ромбы, қара ромбы – Африка.

Штамм ерекшелігі: (w) табиғи (жабайы) изолят, (v) клиникалық изолят (шартты қоздырғыш), (б) нан, L-зертхана, F - ашыту (шарап, сыра, спирт).

Микросателлит деректері еуропалық шарап штамдарының Месопотамиядан шыққанын, содан кейін олардың Жерорта теңізі арқылы Еуропаға немесе Дунай арқылы жүзім сорттарымен бірге көшуін болжайды.

S. cerevisiae шығу тегі мен алуан түрлілігінің орталығы Қытайдың алғашқы ормандары болуы мүмкін, бұл экологиялық және географиялық әртүрлі мекендеу орындарынан оқшауланған оқшаулаулардың үлкен үлгісін талдау арқылы көрсетілген [45].



Сурет 5 - Шараптық ашу фазалары.
 (*М.А.Эльдаров және т.б. авторлар еңбегінен алынған)

Шарап штамдарының биохимиялық ерекшеліктері. Шарап ашыту процесі әртүрлі стресс түрлерімен - қанттың жоғары концентрациясымен, қоршаған ортаның қышқылдануымен байланысты кернеулермен, сульфиттердің жоғары мөлшерімен, анаэробты жағдайлармен, азот көздерінің, липидтердің, витаминдердің жетіспеушілігімен, жоғары концентрациямен анықталатын осмостық кернеумен бірге жүреді [46]. Жақсы шарап штамдары шарап ашытудың барлық негізгі фазаларында осы абиотикалық факторлардың бірлескен әсеріне төзімді және басқа да бірқатар маңызды технологиялық сипаттамаларға ие болуы керек (2-кесте).

Кесте 2 - Шарап штамдарының негізгі өндірістік сипаттамалары
 (*М.А.Эльдаров және т.б. авторлар еңбегінен алынған)

«Ашыту» сипаттамалары	Технологиялық сипаттамалары
Ашытудың тез басталуы	Генетикалық тұрақтылық
Жоғары ашыту тиімділігі	Сульфитке жоғары төзімділік
Этанолға жоғары төзімділік	Көбіктенудің аз болуы
Жоғары осмостық тұрақтылық	Флокуляцияға қабілеттілік
Төмен температуралық оптимум	Тұнбаның аз түзілуі
Биомасса санының көптігі	Кептіруге төзімді
	Протеолитикалық белсенділік

	Азотты аз мөлшерде қажет етуі
Шараптың хош иісі мен букетіне әсер ететін сипаттамалары	Зат алмасу ерекшеліктеріне сипаттамалары
Төмен сульфид пен тиолдың төмен мөлшері	Биогенді аминдердің төмен деңгейі
Ұшқыш қышқылдардың аз өндірілуі	Этил карбаматтың төмен деңгейі
Жоғары спирттердің төмен деңгейі	
Глицериннің жоғары деңгейі	
Жоғары эстеразды белсенділік	

Шараптың сенсорлық және органолептикалық қасиеттері үшін қанттың, аминқышқылдарының, майлардың ыдырауы нәтижесінде түзілетін көптеген ашыту қосалқы өнімдерінің – глицерин, карбон қышқылдары, альдегидтер, жоғары спирттер, эфир және күкірт қосылыстары және т.б. Жүзімнің қышқылдары, терпендері мен тиолдары да өте маңызды, бұл көбінесе қолданылатын штамдардың сипаттамаларына байланысты. Ашыту нәтижесі көптеген факторларға, атап айтқанда, жүзім шырынының құрамы мен сапасына байланысты. Бұл негізінен қанттар (эквивмолярлы жоғары концентрациядағы глюкоза және фруктоза, 180–300 г/л), органикалық қышқылдар (тартар және алма), бейорганикалық катиондар (калий), азотты қосылыстар және липидтер (фитостеролдар). Фруктозаның метаболизмі глюкозаға бағынатындықтан ашытудың кейінгі кезеңдерінде салыстырмалы фруктозаның мөлшері маңызды болып саналады. Шарап ашытқысы бұл қантты ұзақ аштық кезеңдерінде және этанолдың жоғары концентрациясы жағдайында ашытуы керек. Шарап штамдарының фруктозаны тиімді ашыту қабілеті спиртті ашытудың кеш сатысында жоғары ашыту жылдамдығын сақтау үшін өте маңызды. Азот - ашыту жылдамдығына және ұшпа мазмұнына әсер ететін тағы бір маңызды қоректік зат. Сусланың құрамы азотпен шектелген, ал азоттың жетіспеушілігі баяу немесе «жабысып қалған» ашытудың ең көп тараған себебі болып табылады. Ашытқылар үшін азот көздері аммоний иондары, аминқышқылдары, олигопептидтер, белоктар, амидтер, биогенді аминдер және нуклеин қышқылдары болуы мүмкін. 200 г/л қантты ашыту үшін 140 мг/л азот көзі қажет деп жалпы қабылданған. Жүзімнің көптеген басқа компоненттері ашытқылардың метаболизміне әсер етеді (мысалы, липидтер, витаминдер, әртүрлі ингибиторлар) [47-50].

1.3 Шарап ашытқыларының молекулалық-генетикалық ерекшеліктері

Ашытқыларды шарап жасауда және дәстүрлі биотехнологияның басқа салаларында кеңінен қолдану бұл микроорганизмдерді генетика, биохимия, жасуша биологиясы, физиология, геномика және эволюциялық биологиядағы зерттеулердің алдыңғы қатарына шығарды. Тіпті «геномға дейінгі» кезеңнің өзінде сахаромицеттердің табиғи және өндірістік штамдары жоғары генетикалық әртүрлілікпен сипатталатыны белгілі болды, бұл олардың S288C эталондық зертханалық штаммымен салыстырғанда олардың сипаттамаларында айтарлықтай айырмашылыққа әкеледі. Ашытқылардың «қол жетімді» штаммдарды алу кезінде адамдар абайсызда *S. cerevisiae* геномына енгізген эволюциялық шектеулер нақты қолдану үшін ең қолайлы жоғары мамандандырылған фенотиптері бар штаммдардың айтарлықтай санын өндіруге әкелді. S288C штаммының геномының шифры ашылғаннан бері өткен 20 жыл ішінде толық немесе ішінара дерлік геномдық реттілігі алынған *S. cerevisiae* штамдарының саны бірнеше жүзге жетті. Бұл зерттеулердің барысы салыстырмалы түрде шағын геном өлшеміне және қайталану санының аздығына байланысты ашытқы мінсіз нысана болып табылатын жоғары өнімді секвенирлеу әдістеріндегі соңғы революциямен байланысты [51, 52].

Қазіргі уақытта NCBI дерекқорында әртүрлі *S. cerevisiae* изоляттарының 237 дерлік толығымен декодталған және аннотацияланған геномдары туралы ақпарат бар.

Saccharomyces cerevisiae шарап ашытқыларының штаммдарын адамдар қанттың жоғары жеміс шырындарының жылдам өсуі, жоғары өнімділік және этанолға және соңғы кезде сульфитке төзімділігі сияқты бірнеше арнайы белгілерге қарай эволюцияға қолайлы жағдайларда 8000 жылдан астам уақыт бойы таңдап алған. Шарап ашытқылары зертханалық штаммдарға қарағанда хромосомалардың мөлшері мен саны бойынша үлкен әртүрлілікті көрсетеді. Олар анеуплоидты, дисомиясы немесе трисомиялары бар, ал кейбір жағдайларда дерлік диплоидты немесе триплоидты. Анеуплоидия пайдалы гендердің көшірме санын көбейту және өлімге әкелетін немесе зиянды мутациялардан қорғау арқылы селективті артықшылықтар беруі мүмкін [53].

Анеуплоидия немесе полиплоидияның кең таралғаны сонша, хромосомалардың теңгерімсіз жиынтығын сақтау тиімді болып саналады. Хромосомалық өзгерістерге хромосомалардың көбеюі немесе жоғалуы, жойылуы (30–50 кб), гибридті хромосомалардың болуы және көп жағдайда қайталануы (30–390 кб) жатады. Бұл қайта құрулар субтеломерлі қайталанулар және транспозициялық элементтер арқылы рекомбинация арқылы пайда болды деп болжанған. Нүктелік мутациялар сияқты шамалы айырмашылықтар да мүмкін. Мұндай вариациялар штамм сипаттамаларына егер ол ашық оқу шеңберінде (ORF) немесе геннің реттеуші аймақтарында локализацияланған болса әсер етуі мүмкін [54, 55].

Кесте 3 - *S. cerevisiae* геномының тізбектік құрамы

Кодталған өнімдер	Тізбектің жалпы саны	Тізбектің орташа мөлшері	Тізбектің геномдағы мөлшерінің пайыздық көрсеткіші (%)
Акуыздар			
Жалпы ОРС (САР)	6340	1450	68,64
Интрондар	225	500	0,84
РНК			
рРНК	140	9000	9,41
тРНК	275	80	0,16
мяРНК	80	500	0,30
Мобильді элементтер			
Ty1 – Ty5	53	5900	2,20
Хросомалық элементтер			
ARS	750	20	0.11
CEN	16	95	0.01
Субтеломерлі қайталама			
(Y') типі	21	5800	0,92
(X) типі	31	400	0,09
Теломерлі қайталама (C ₁₋₃ A)	32	300	0,07
Генаралық аудандар	~4600	500	17,25

(*Saccharomyces* геномы туралы ақпарат NCBI деректер базасынан алынған)

Ашытқы геномдарының өзгергіштігінің механизмі. Шарап штаммдарының және басқа ашытқы штаммдарының геномдарын ашу нәтижелері олардың маңызды генетикалық гетерогенділігі, көптеген SNP және InDels бар болуы, анықтамалық геноммен салыстырғанда үлкен хромосомалық қайта құрулар және CNV, ORF өлшемдеріндегі өзгерістер туралы «геномға дейінгі» идеяларды растады. 100 табиғи, клиникалық және өнеркәсіптік изоляттардың геномдық ретін S288C штаммының геномымен салыстыру SNP орташа жиілігі бір геномға 78140, Indel – 7840; 566 ORF үшін олардың өлшемдерінде ауытқулар табылғанын көрсетті. 236 штамм үшін анықталған шарап ашытқысының геномдарының нуклеотидтер тізбегінің өзгергіштік дәрежесі айтарлықтай төмен болып шықты, бұл штаммдардың жоғары инбредтелген популяцияны білдіретінін көрсетеді. Дегенмен, шарап ашытқысы штамдарының геномдарында хромосомалық полиморфизмдердің барлық түрлерінің мысалдарын, сондай-ақ айқын адаптивті маңызы бар интрогрессия мен HGT іздерін табуға болады [56, 57].

Транслокация және амплификациясы. Ашытқылардағы хромосомалық полиморфизмнің негізгі себебі Ty элементтері мен басқа қайталанулар арасындағы эктопиялық рекомбинация болып табылады. Транскрипция мен трансляцияны реттеу факторларын және әртүрлі адгезиндерді кодтайтын

иондарды, канттарды және металдарды тасымалдауға жауап беретін субтеломерлі аймақтарда орналасқан гендер көбіне делециялар мен амплификацияларға ұшырайды. Бұл бақылаулар субтеломерлік аймақтардың жоғары пластикасын және олардың шарап ашытқыларының өзгермелі қоршаған орта жағдайларына тез бейімделуі үшін өзгергіштік көзі ретіндегі маңызды рөлін растайды. Шарап штамдарындағы хромосомалық қайта құрылымдау жиілігінің жоғарылауы этанолдың жоғары концентрациясының мутагендік әсерімен байланысты болуы мүмкін, дегенмен бұл вариациялардың адаптивті маңызы анық емес. Бейімделу мәні бар хромосомалық қайта құрылымдаудың жақсы құжатталған мысалы шарап штамдарындағы VIII және XVI хромосомалар арасындағы жалпы реципрокты транслокация болып табылады. Бұл транслокация SSU1-R1 сульфитті сорғы генінің басым аллельінің түзілуіне әкелді. Бұл аллельдің экспрессия деңгейі бастапқы SSU1 генінен әлдеқайда жоғары, осылайша тасымалдаушы штамдарда сульфитке төзімділіктің жоғары деңгейін қамтамасыз етеді. Жақында XV және XVI хромосомалары арасындағы тағы бір транслокация табылды, бұл да SSU1 генінің экспрессиясының жоғарылауына әкеледі. Бұл екі транслокация шарап ашытқыларында ғана табылды, олар жоғары жиілікте жүреді және сульфиті бар ортада лаг фазасының ұзақтығын қысқарту арқылы селективті артықшылық береді. Осылайша, сульфитті қолданудың ғасырлар бойы тәжірибесі SSU1 аллельінің химерикалық нұсқасы бар штамдарға бейімделу артықшылығын беретін конвергентті эволюциялық қайта құруларды алға жылжытатын «көпірді» тудыруы мүмкін [58, 59].

Адаптивті құндылығы бар қолға үйретудің тағы бір мысалы CuSO_4 -ке жоғары төзімділікті алу болып табылады. Мыс сульфаты жүзімдіктерді ұнтақты көгеруден қорғау үшін фунгицид ретінде кеңінен қолданылады. Еуропалық және жапондық желілердің штамдарында бұл төзімділік мыс байланыстыратын металлотионеин ақуызын кодтайтын CUP1 генінің көшірме санының жоғарылауымен байланысты. Промотордың нуклеотидтер тізбегінің өзгеруі EC1118 штаммында табылған CUP1 генінің экспрессиясын күшейтудің тағы бір жолы болып табылады [60].

Жақында жүргізілген геномдық зерттеулер адаптивті маңызы бар CNV шарап штамдарының айтарлықтай санын анықтады (М.А.Елдаров т.б. авторлар). Көбінесе әртүрлі цитотоксикалық агенттерге ашытқы төзімділігін қамтамасыз ететін тасымалдаушылардың, дегидрогеназалардың және басқа белоктардың гендері күшейтуге ұшырайды.

Гендердің жоғалуы және инактивациялануы. Суды тасымалдаушылар, Ақу аквапориндер суды экспорттау арқылы мұз кристалдары арқылы жасушаішілік зақымдануды болдырмайтын мұздату-еріту стрессінде өмір сүру үшін өте маңызды. Екінші жағынан, осмостық кернеуді жеңу үшін жоғары қант субстраттары пайдаланылған кезде Ақу функцияларын жоғалту пайдалы. Зертханалық және өндірістік штамдар, сондай-ақ кейбір табиғи штамдар функционалды емес AQY2 немесе AQY1 аллельдерін алып жүреді. Бұл паралогтардың мутациялық инактивациясы бірнеше рет орын алды [61].

Гендердің көлденең трансфері. Салыстырмалы геномика әдістері HGT шарап ашытқыларының геномдық ландшафтына күтпеген елеулі үлесін анықтады. EC118 коммерциялық штаммының геномында филогенетикалық алыс ашытқы штаммдарынан тәуелсіз HGT оқиғалары нәтижесінде алынған үш хромосомалық сегменттер, А, В және С табылды. В учаскесінің доноры ашытқы *Zygosaccharomyces bailii* ашытқысы болды, ашыған шараптың жиі ластаушы заты. В сайтының нұсқаларының көп көшірмелері әртүрлі шарап штаммдарында табылды. С сайтының шығу тегі *Torulaspora microellipsoides* ашытқысынан салыстырмалы түрде жақында жүргізілген зерттеулермен байланысты. Барлық үш сегменттің бір бөлігі ретінде барлығы түсіндіріледі

Шарап жасау үшін, атап айтқанда, азот пен көміртек катаболизмі үшін потенциалды маңызды функциялары бар 39 ген бар. С локусының кейбір гендері толығырақ сипатталған. Осылайша, FSY1 гені жоғары жақындығы бар фруктозаның H⁺ симпортерін кодтайды, оның болуы фруктозаның мөлшері жоғары болған кезде ашытудың кеш кезеңдерінде маңызды болуы мүмкін. Ксилозаны пайдалану үшін ксилитдегидрогеназа XDH1 гені қажет [62].

Тандемді дубликацияланған FOT1-2 гендер олигопептидті тасымалдаушыларды кодтайды және бұл гендердің бейімделу маңыздылығы эксперименталды түрде дәлелденді. Fot протеиндерінің экспрессиясының жоғарылауы бар штамдар олигопептидтердің үлкен жиынтығын, әсіресе глутаматқа олигопептидтерді тасымалдауды қамтамасыз етті, бұл шарап жасау жағдайында өсу жылдамдығының, ашыту тиімділігінің және өміршендігін арттыруға әкелді. Сонымен қатар, Fot пептидті тасымалдау көміртегі мен азот алмасуының орталық жолдарына, аминқышқылдары мен пептидтердің синтезіне, тотығу стрессіне реакцияға, тотығу-тотықсыздану метаболизміне айтарлықтай әсер етті, бұл өз кезегінде шараптың органолептикалық қасиеттеріне оң әсер ететін эфирлердің мөлшерінің көбеюіне әкелді [63].

Түрлі ди- және трипептидтерді пайдалану мүмкіндігі штамдар арасында айтарлықтай өзгерісті тудырады және FOT гендерінің болуы осы фенотиптік өзгерістікке маңызды үлес қосады. Азот катаболизмінің тиімділігін арттыруда маңызды рөлді FOT гендерімен бірге HGT арқылы тасымалданатын осы жаңа локустардың бөлігі болып табылатын басқа гендер де атқара алады. Олардың ішінде аспарагиназаны, оксопролиназаны, аммиак тасымалдаушыларын кодтайтын гендер, лизин гендерінің транскрипция факторлары және пролинді утилизациялау ферменттері бар.

Интрогрессия. *S. cerevisiae* шарап штаммдарында *S. paradoxus*, *S. uvarum* және *S. eubayanus* штаммдарынан интрогрессияның бірнеше орындары (яғни, тектегі HGT) анықталды. Коммерциялық шарап штаммдарына ауыстырылған *S. paradoxus* геномының кеңейтілген аймағы ақ шарап өндіру технологиясы үшін маңызды болып табылатын SUC2 инвертаза генінің және глюкан альфа 1,4 глюкозидаза генінің аймағын қамтиды. Тасымалданған локуста сонымен қатар штамдарға тән және жасуша бетіне гидрофобтылық беретін AWA1 гені бар. Соңғы зерттеулердің бірі түр аралық будандастырудың эволюциялық артықшылықтарын эксперименталды тексеруге арналған. Эксперименттік

гибридті *S. cerevisiae* мен *S. uvarum* алынды және азоттық ашығу жағдайында тәжірибелік іріктеуден өтті. Нәтижесінде жоғары аффинді аммоний өткізгіштігін кодтайтын модификацияланған химерлі MEK2 гені бар штамм таңдалды. Бұл *S. uvarum* геномының шағын аймағының *S. cerevisiae* XIV хромосомасына енуінің нәтижесінде орын алды [64].

Сахаромицеттердің түр аралық будандары сыра қайнату және шарап жасауда кеңінен қолданылады. Ең танымал мысал - *S. pastorianus* ашытқысы.

Кейбір коммерциялық шарап штаммдары да гибридтер мен полиплоидтар болып табылады - VIN7 (*S. cerevisiae* X *S. kudriavzevii*); S6U (*S. cerevisiae* X *S. uvarum*), EP2 (*S. cerevisiae* X *S. kudriavzevii* және NT50).

Кесте 4 - *S.cerevisiae* шарап штаммдарының негізгі геномдық ерекшеліктері

Геномдық ерекшелігі	Штамдар саны
НО жою	27
Плазмида А	204
В	1
Плоидты 1 (эуплоидты/гомозиготалы)	28 (20/28)
2 (эуплоидты/гомозиготалы)	199 (175/115)
3 (эуплоидты/гомозиготалы)	2 (1/0)
4 (эуплоидты/гомозиготалы)	1 (0/1)
	Нөмірді көшіру
Плазмида А (бар болса)	1-ден 210-ға дейін (медиана 25)
Қосымша ORF* HGT аймақтары (А, В немесе С)	30-ға дейін
<i>S. paradoxus</i> интрогрессия	25-50
Ту көшірмелері* Tu1	15-ке дейін
Tu2	30 дейін
Tu3-5	<10 әрқайсысы

(**Saccharomyces* геномы туралы ақпарат NCBI деректер базасынан алынған)

S. cerevisiae мен *S. kudriavzevii* арасында түзілген түр аралық будандар сыра мен шараптың ашытуынан бөлініп алынды, ал қоршаған ортадан алынған

сынама *S. kudriavzevii*-дің Жерорта теңізі бойында *S. cerevisiae* симпатриялық байланысындағы емен тұқымдастығын көрсетті. Мысалы, VIN7 коммерциялық шарап ашытқысы *S. cerevisiae* және *S. kudriavzevii* гибриді болып табылады [65, 66]. Бұл ашытқы штаммы жақында басқа коммерциялық шараптарға карағанда жүзімнен алынған хош иісті емес прекурсорлардан жеміс тиол 4-меркапто-4-метилпентан-2-нің (4ММР) әлдеқайда көп мөлшерін босату қабілетіне байланысты шарап өндірушілер арасында танымал болды. VIN7 геномы *S. cerevisiae* және *S. kudriavzevii* толық дерлік аллотриплоидты гибрид болып табылатыны және *S. cerevisiae* гетерозиготалы диплоидты геномы мен *S. kudriavzevii* гаплоидты геномы бар екені көрсетілді.

Таксономиялық атауы
Эукариоттар
Саңырауқұлақтар
Аскомицеттер
Сахаромицеттер(<i>Saccharomycetes</i>)
<i>Saccharomycetales</i> (бүршік ашытқылар)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> x <i>Saccharomyces kudriavzevii</i> VIN7

Тізбектің жалпы ұзындығы	23371538
Контиг жалпы саны	419
Контиг N50	139679
Контиг L50	36
Хромосома мен плазмиданың жалпы саны	33
Тізбек компоненттерінің саны	419

Сурет 6 - VIN7 штамының таксономиясы және геномына сипаттама
(**Saccharomyces* геномы туралы ақпарат NCBI деректер базасынан алынған)

VIN7 штамы Аустралияның шарап өндірісімен айналысатын ғылыми-зерттеу институтында бөлініп алынған. Бұл штаммның толық геномы туралы ақпарат Genbank жүйесіне 2011 жылдың 23 желтоқсанында енгізілген. Тізбектің жалпы ұзындығы - 23371538, тізбек компоненттерінің саны - 419, хромосома мен плазмиданың жалпы саны – 33 [67].

Шарап ашыту жағдайында гибридтер белгілі бір артықшылықтарға ие болуы мүмкін, соның ішінде әртүрлі стресс түрлеріне төзімділіктің жоғарылауына байланысты. Мысалы, *S. kudriavzevii* және *S. bayanus* төмен температурада өсуге жақсы бейімделген, ал *S. cerevisiae* этанолға төзімді. Осы штаммдардың будандары ата-аналардың әрқайсысының бәсекелестік

артықшылықтарына ие бола отырып, температура мен этанол стресс жағдайында өсуге жақсы бейімделеді. Мұндай гибридтер хош иісті қосылыстардың жоғалуын болдырмау үшін төмен ашыту температурасы пайдаланылған кезде ақ шарап технологиялары үшін өте құнды болуы мүмкін. Гибридтердің генетикалық сипаттамалары шараптың дәмдік сипаттамаларына да тікелей әсер етуі мүмкін. *S. cerevisiae* x *S. kudriavzevii* гибридтері сипатталған, олар кейбір жүзім сорттарынан қышқыл ашыту кезінде күрделі эфирлер мен жоғары спирттер өндірісінің жоғарылауымен сипатталады. Шарап ашыту жағдайында мұндай будандар тиол 4-меркапто-4-метилпентандионды, күшті жеміс хош иісі бар хош иісті қосылыстарды көбірек шығарады. Мұндай гибридтердің жиі пайда болуы олардың бейімделу артықшылығын көрсетуі мүмкін, дегенмен стресстік жағдайлардың өзі будандастыру процестерін ынталандыратынын жоққа шығаруға болмайды [68].

Гибридтердің генетикалық тұрақсыздығы олардың хромосомалық жиынтықтарының айтарлықтай өзгергіштігіне, басқа хромосомалық қайта құрулар мен модификацияларға әкеледі.

S. cerevisiae x *S. kudriavzevii*-дің 24 табиғи будандарын молекулалық талдау олардың пloidтылығында (2n-ден 4n-ге дейін) және *S. kudriavzevii* генетикалық материалының құрамындағы елеулі өзгерістерді анықтады [69].

Жақсы сілтеме жасалған жұмыста 212 реттелген шарап штамдарының геномдары *Saccharomyces sensu stricto clade* басқа штамдарынан генетикалық материалдың болуымен ерекшеленген. Жалпы алғанда, *S. cerevisiae*-дан басқа штамдар тізбегінің үлесі өте мардымсыз болып шықты. Алайда 17 штамда *S. paradoxus*, *S. uvarum*, *S. eubayanus*, *S. mikitae*, *S. kudriavzevi* геномдарынан тасымалданған кеңейтілген аймақтар (бір хромосоманың 10%-дан астамы) анықталды. Сонымен қатар, осы 17 штамның 12-сінде толық дерлік екінші геном болды. Зертханада шарап штамдары мен сахаромицет емес басқа штамдар арасында жаңа коммерциялық желілерді жасау үшін сирек кездесетін будандастыру оқиғаларынан бес гибрид шығарылды. Басқа штамдар полиплоидияның өте өзгермелі дәрежесімен ерекшеленді. Мысалы, NT50 штаммында *S. cerevisiae* гаплоидты геномы және *S. kudriavzevii* 13 хромосомасының бір көшірмесі болды. S6U және WLP862 штамдарында үш түрлі түрдегі генетикалық материалдың айтарлықтай үлесі болды [70].

Эволюциялық тарих және антропогендік әсерлер байланыс *Saccharomyces cerevisiae*-ны шарап ашытқысының квинтэссенциясына айналдырды. Бұл түр әдетте шараптың кез келген өздігінен ашытуында басым болады және соңғы уақытқа дейін барлық коммерциялық қол жетімді шарап стартерлері осы түрге тиесілі болды. Crabtree эффектісі және толық анаэробты жағдайда өсу қабілеті олардың осы ортадағы үстемдігіне шешуші үлес қосады. Бірақ *Saccharomyces cerevisiae* барлық штамдары бастапқы дақылдар сияқты бірдей қолайлы емес. Бұл зерттеу жұмысында біз *S. cerevisiae* шарап штамдарының физиологиялық және генетикалық сипаттамаларын, сондай-ақ эволюция кезінде оларды қалыптастырған биотикалық және абиотикалық факторларды қарастырамыз. Бұл ашытқылар тобының шектеулі генетикалық әртүрлілігі энологиядағы жаңа

мәселелерді шешуге кедергі болуы мүмкін. Дегенмен, осы саладағы зерттеулер гендік инженерия мен классикалық генетикалық құралдардан шарап ашытқыларының каталогтарына басқа ашытқы түрлерін қосуға дейін осы әртүрлілікті арттыру үшін көптеген жылдар бойы құралдарды қамтамасыз етті. Кейде бұл дәстүрлі емес түрлер *S. cerevisiae* бар түр аралық будандар тудыруы мүмкін. Осылайша, *S. cerevisiae* шарап штаммдары және басқа да шарап ашытқылары туралы біліміміз үнемі кеңейіп келеді. Соңғы онжылдықтарда шарап ашытқыларын зерттеу энологияны модернизациялаудың негізгі тірегі болды және ашытқы биотехнологиясы болашақта кез келген проблемаларды шешуге, мысалы, климаттың өзгеруіне ықпал ететініне сенімді айтуға болады [71, 72].

Спиртті ашу процесі адамзат тарихындағы ең көне биотехнологиялық трансформация болса керек. Қытайдағы, Ирандағы, Мысырдағы немесе Грузиядағы археологиялық үлгілердің химиялық талдаулары шарап пен басқа ашытылған сусындардың өндірісін ауыл шаруашылығының шығу тегіне дейін бақылайды. Дегенмен, жүзім мен басқа дақылдарды қолға үйрету арнайы болды деп болжауға болатын болса да, шарап ашытуға жауапты агенттерді қолға үйрету негізінен бейсаналық болды. Ашытқылардың алкогольдік ашытуға қатысуы XIX ғасырға дейін жалпы қабылданған жоқ. Таңдалған стартерлік культураларды пайдаланып ашыту процестерін меңгеру шарап жасау тарихындағы алғашқы жаңалық болып табылады. Бұл жаңалық 1970 жылдарға дейін кең тараған тәжірибеге айналған жоқ. Осы уақытқа дейін шарап жасауда қолданылатын өнеркәсіптік стартерлердің барлығы дерлік *Saccharomyces cerevisiae* түріне жатады. Бұл түр биологияның әртүрлі салаларында үлгі организм ретінде ертеде қабылданған; микробиология, биохимия, физиология, генетика немесе геномика, т.б. Алғашқы морфологиялық сипаттамалардан немесе оның ұрық теориясына қосқан үлесінен бастап, *S. cerevisiae* биотехнологиялық жұмыс күші ретінде де, үлгі организм ретінде де синергетикалық түрде дамыды [73].

Бұл сонымен қатар толық реттелген алғашқы эукариоттық организм болды және NGS тұтас геномды секвенирлеуді танымал ету арқылы ол қазір микробиология, популяциялық генетика және синтетикалық биология үшін үлгі болып табылады. Осыған қарамастан, зертханада және өнеркәсіпте қолданылатын штаммдардың сипаттамалары арасында, сондай-ақ екі ортада жиі кездесетін өсу жағдайларында айтарлықтай айырмашылықтар бар.

S. cerevisiae гаплоидты геномы шамамен 12 млн ретті тізбектен және 16 хромосомаға бөлінген болып келеді. Ақуызды кодтайтын гендердің саны шамамен 6000-ға жуық. *S. cerevisiae*-нің қазіргі геномы (және WGD-тен кейінгі деп аталатын ашытқы түрлерінің шағын жиынтығы) ата-бабадағы геномды қайталау оқиғасының (бүкіл геномның қайталануы үшін WGD) нәтижесі болып табылады. Нәтижесінде тетраплоидты жасуша пайда болады. Кейінірек геннің артық бөлігі жоғалды, бірақ әлі де осы түрдің ақуыздарының шамамен 13% -ы осы ежелгі қайталанудың нәтижесінде пайда болған жұптар. Көп жағдайда бұл оқиға көшірмелердің кем дегенде біреуін мамандандыруға мүмкіндік бергендей

болды. Бұл қайталану сонымен бірге гликолиз ағынының ұлғаюының негізінде жатқан сияқты, бұл ақыр соңында Crabtree әсеріне әкелуі керек [74-79]. Соңғы деректер *Saccharomyces* түрлерінің барлығы Азияда пайда болғанын және қытайлық емес *S. cerevisiae* штамдарының барлығы Қытайдан тыс жерде бір оқиғадан шыққанын көрсетеді. *S. cerevisiae* филогенетикалық ағашының бір жағындағы шарап пен еуропалық класқа түсетін шарап изоляттары арасында күшті генетикалық байланыс бар. Салыстырмалы геномика сонымен қатар қазіргі заманғы шарап изоляттарын алу процесіндегі популяцияның тар саңылауына байланысты монофилді екенін көрсетеді. Бұл түрлер пloidты, сондай-ақ анеуплоидияны көрсете алатынына қарамастан, шарап ашытқысының изоляттарының көпшілігі таза диплоидтар болып табылады [80, 81].

2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ЗЕРТТЕУ ӘДІСТЕРІ

2.1 Зерттеу объектісі

Қазіргі уақытта NCBI дерекқорында әртүрлі *S. cerevisiae* изоляттарының 237 дерлік толығымен декодталған және аннотацияланған геномдары туралы ақпарат бар. Зерттеу жұмысының зерттеу объектісі ретінде пальма шарабын жасауда қолданылатын үш түрлі тұқымдасқа жататын *S. cerevisiae*, *P. kudriavzevii* және *C. ethanolica* ашытқы түрлері алынды.

Көптеген зерттеулер *S. cerevisiae*-нің биохимиялық және геномдық қасиеттерін түсінуге көмектескенімен, ашытқы түрлері толық қамтылмағанын көрсетеді. Пальма шарабындағы *S. cerevisiae* және *S. cerevisiae* емес ашытқылар туралы көбірек түсіну сусындағы ашытқылардың әлеуеті туралы көбірек ақпарат алу немесе жана түрлерді ашу үшін қажет. Қосымша ақпарат алу үшін көптеген зерттеушілер молекулалық сипаттаманы қолданды және бұл сусынның жаңа ашытқы штамдарын дұрыс анықтауға әкелді [82, 83]. Пальма шарап ашытқыларының алуан түрлілігі жан-жақты зерттелмеген және әдебиеттерде организмдер арасындағы қарым-қатынастарды орнату үшін қажетті негізгі құрылымдар болып табылатын эволюциялық ағаштарды көрсететін есептер аз. Бұл зерттеу жұмысында пальма шарап ашытқыларының және олардың жақын туыстарының 26S rRNA реттілігі деректеріне негізделген эволюциялық қарым-қатынастары қарастырылады және сусындардағы ашытқылардың әртүрлілігіне көбірек көңіл бөлуге бағытталған.

2.2 Зерттеу әдістері

pPHҚ гендері үшін ішінара реттілік деректері. Nwaiwu O, Ibekwe VI, Amadi ES. жүргізген 2016 жылғы зерттеулерінде пальма шарабы ашытқысының 18 изоляттарынан алынған ішінара 26S рPHҚ генінің тізбегі, қосылу нөмірлері (HG452325-42) депонирлеген болатын. Осы зерттеуде анықталған ашытқылардың, атап айтқанда *S. cerevisiae*, *P. kudriavzevii* және *C. Ethanolica* штамдарының молекулалық-генетикалық қасиеттері зерттелінді. Ал пальма ағаштарынан *Elaeis және Raphia* түрі жаңа жаңартылған іздеулер үшін пайдаланылды. *Elaeis* үшін реттік нөмірлері HG425336, HG425328 және HG425333, ал *Raphia* үшін HG425332, HG425338 және HG425335 тізбектері пайдаланылды. Жоғарыда таңдалған алты тізбектің ағымдағы нұсқалары Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank/>) дерекқорындағы жаңартылған іздеу үшін бөлек пайдаланылды. Іздеулер өте ұқсас тізбектер үшін оңтайландырылды және сәйкестендірудің ең жоғары пайызы бар ашытқы түрінің әрбір туыстарынан алынған алғашқы 100 реттіліктен 600 реттілікке дейін қысқаша тізімді құрастыру үшін белгіленді. Бұл реттіліктер жіберу кезінде тізімделген сипаттамаларға тексеріліп, содан кейін шыққан елдері мен шығу тегі атап өтілді. Геномдардың ұқсастығы жалпы ДНҚ фрагменттері арқылы бағаланды. Шынында да, геномдардағы ортологтық гендердің саны олардың эволюциясын көрсетеді. Мұндай өлшемнің нұсқасы BLAST бағдарламасын пайдаланып геномдарды салыстыру кезінде сақталған домендерге, гендерге немесе гендік кластерлерге сәйкес келетін кеңейтілген сәйкес аймақтардың саны болып табылады.

Филогенетикалық талдау. Ашытқыларды тез және дәл анықтаудың альтернативті әдістерін іздестіру, әртүрлілікті түр және түр ішілік деңгейде зерттеу бүкіл әлемде жүргізілуде. Молекулярлық мәліметтерді филогенетикалық талдау генетикалық макромолекулалардың (РНҚ, ДНҚ, белоктар) құрылымы мен қызметін және олардың эволюциялық түрленуін теориялық тұрғыдан зерттеу тәсілдерінің бірі болып табылады. Филогенетикалық талдаудың негізгі мақсаты - гендер мен белоктардың немесе олардың бөліктерінің реттілігінің эволюциялық реттілігін зерттеу, сонымен қатар осы макромолекулалардың тектік линияларындағы эволюциялық оқиғалардың (нуклеотидтердің алмастырылуы, жойылуы және инсерциясы) тізімдерін қалпына келтіру. Филогенетикалық талдаудың негізгі құралы – құрылымы немесе қызметі жағынан ұқсас гендерді немесе белоктарды салыстыру, ең алдымен олардың бірінші реттілігін салыстыру болып табылады [84, 85].

Филогенетикалық ағаштар молекулярлық эволюциялық-генетикалық талдауға арналған компьютерлік бағдарламалық құралды пайдалана отырып, қысқа тізімге енгізілген тізбектерден құрастырылды (MEGA 7 нұсқасы).

Бағдарламалық жасақтама Genbank-тен тізбектерді үздіксіз тасымалдауға мүмкіндік берді. Эволюциялық тарих Тамура-Ней моделіне негізделген максималды ықтималдық әдісі арқылы шығарылды. Ең жоғары ықтималдығы бар ағаш таңдалды. Эвристикалық іздеуге арналған бастапқы ағаштар максималды күрделі ықтималдық тәсілі арқылы алынды. Ағаштар масштабы кішірейтілді, бұтақтардың ұзындығы учаскедегі ауыстыру санымен өлшенеді. Бос орындар мен жетіспейтін деректерді қамтитын барлық позициялар жойылды.

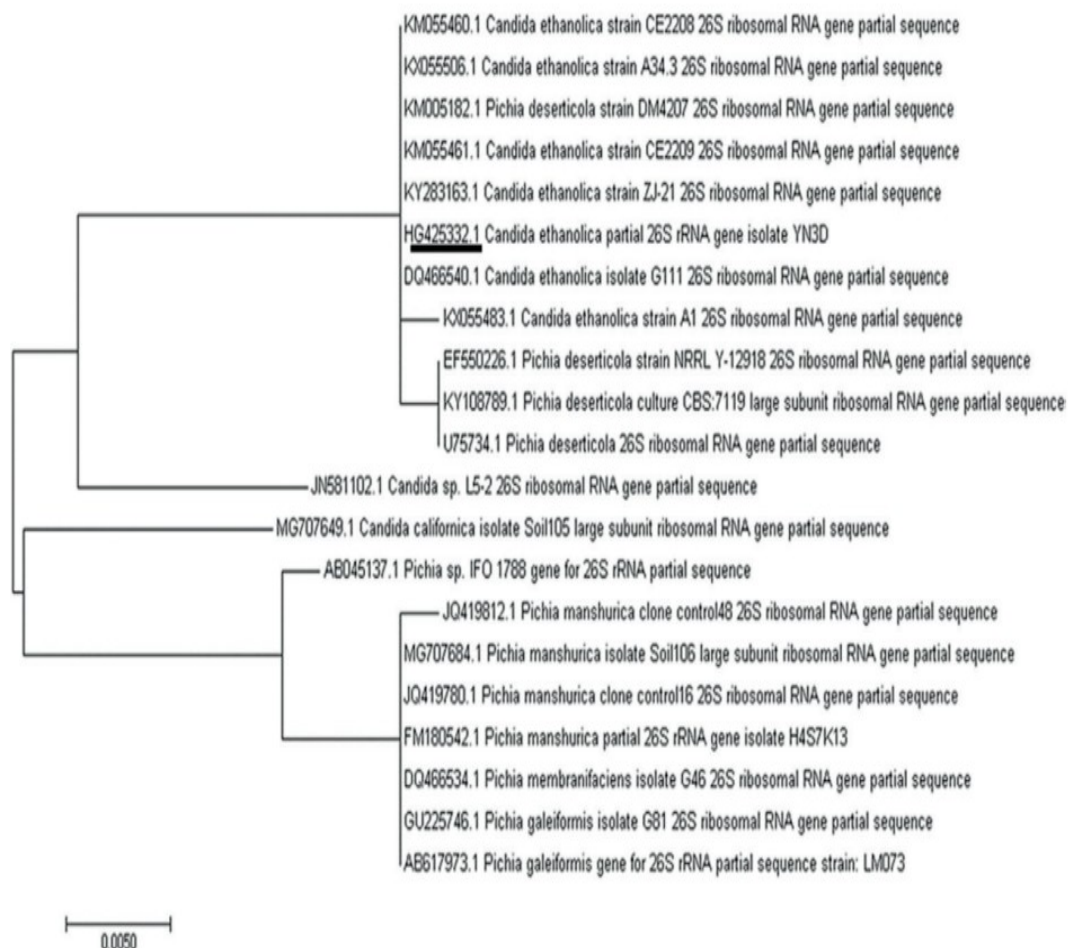
3 ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ

3.1. Пальма шарабы ашытқыларына филогенетикалық талдау және олардың эволюциялық қатынастарын анықтау

Ашытқылар қажетті арнайы штаммнан тұратын бірнеше өнеркәсіптік тағамдық ашыту процестерін жеңілдетеді. Міне, сондықтан да жергіліктендіру географиялық аудандарда ашытқылардың таралуының негізгі қозғаушы күші болып саналады [86]. Табиғаттағы ашытқы алуан түрлілігінің экологиялық негіздерін түсіну үзінді болып қала береді және жаңа метаболикалық белгілері бар өнеркәсіптік пайдалы ашытқы штаммдарын құру әдісі ретінде патшалықаралық бәсекелестік ұсынылды. Пальма шарап ашытқылары әлі де әртүрлілікті айтарлықтай зерттеген жоқ, сондықтан олардың туыстарына қарау қосымша ақпарат алуға мүмкіндік береді. Соңғы онжылдықта 26S rRNA гендеріне негізделген пальма шарабы ашытқы тізбегін ұсынудың өсуі негізінен академиялық журналдардың сапа тексерулеріне байланысты болды [87, 88]. Жаңа штаммдарды анықтау негізгі жергілікті теңестіру іздеу құралымен іздеуді орындаумен, содан кейін GenBank-ке ДНҚ тізбегін ұсынумен бірге жүреді. Бенсон және т.б. мәліметтері бойынша, GenBank – ресми сипатталған 370 000 түрге дейін жалпыға қолжетімді нуклеотидтер тізбегін қамтитын жан-жақты дерекқор. Қабылданған әрбір реттілік деректерін GenBank аннотациясының қызметкерлері оның қосылу нөмірлері тағайындалған қателердің болмауын

камтамасыз ету үшін таңдайды. Осы зерттеуде пайдаланылған барлық тізбектер тергеушілер ұсынған алғашқы нұсқалар болды. Салынған ағаштар үшін максималды ықтималдық әдісі таңдалды, себебі ол есептеулер қарқынды және барлық мүмкін болатын ағаштар қарастырылады [89].

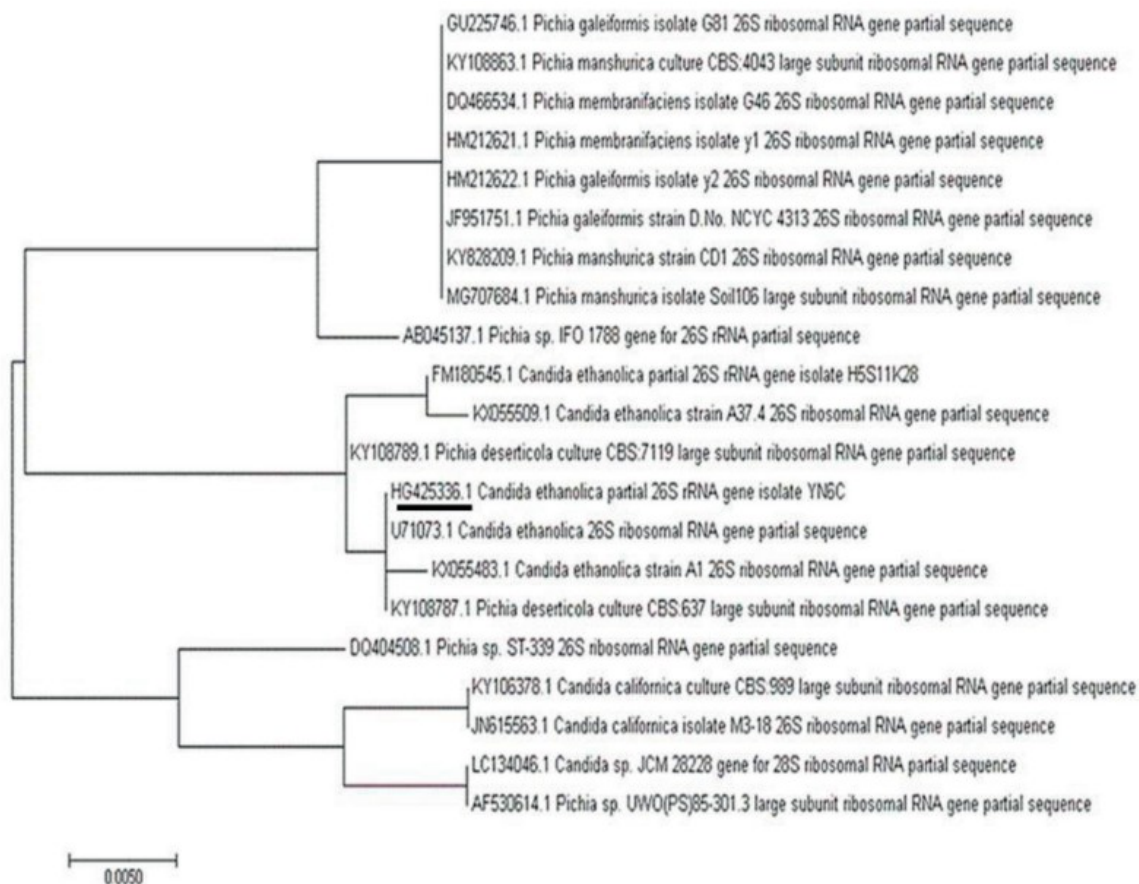
Candida ethanolica. *C. ethanolica* ашытқысы пальма шарабында жиі кездеспейді. Бұл дәстүрлі емес ашытқы болып табылады, ол өнеркәсіптік қолдану үшін ашытқы биоәртүрлілігінің үлкен ресурсын көрсете алады, өйткені ол қатаң экологиялық жағдайларда болатын кейбір стресс факторларына бейімделген. Зерттеулер нәтижесінен *C. ethanolica*-ның этанолға төзімділігі 7%-ға дейін артық екені анықталды. Бұл жаңа пальма шарабы сусындарын әзірлеу үшін пайдалы ақпарат болуы мүмкін, әсіресе қазіргі уақытта *S. cerevisiae*-ны алмастыратын немесе белгілі бір өнеркәсіптік ашытулар кезінде сүйемелдейтін ерекше қасиеттері бар сахаромицет емес ашытқыларға қызығушылық артып келе жатыр. *C. ethanolica* штаммы басқа *Candida* түрлерімен тығыз байланыста екенін көрсетті. *Raphia* туыстары бір түйіннен шыққан пальма шарабы (7-сурет) әртүрлі көздерден пайда болған. *C. ethanolica* (HG425332) жанындағы жақын туыстары (KY283163 және DQ466540) Қытайдағы аквакультураға және Ганадағы күрделі какао ашытуға арналған аралас микробтық ұнтақтардан бөлініп алынған. Басқа жақын туыстар *Pichia* тұқымдасының түрлері болды. *P. deserticola* штаммы (KM005182) эталондық штамм сияқты бір түйіннен Қытайдағы аралас рационды сүрлемнің аэробты бұзылуынан алынған. *Elaeis* (8-сурет) *C. atomica* (HG425336) штаммының жақын туысы пальма шарабы Таиландтағы табиғи ашытылған мианг жапырақтарымен байланысты анықталмаған көзі және танинге төзімді ашытқысы бар зертханалық дақылдар жинағынан алынған. GenBank-тегі белгісіз көзден алынған *P. deserticola*-ның тиісті штаммы үлкен сипаттамалық зерттеуден алынды.



Сурет 7 – *Raphia* пальма ағашынан алынған шарап ашытқысы *Candida ethanolica*-ның (HG425332-астын сызылған) филогенетикалық талдауы. Ағаш масштабта кішірейтілген, бұтақтардың ұзындығы әр учаскедегі ауыстырулар санымен өлшенеді.

Екеуінде де *Elaeis* және *Raphia* пальма шарабы, басқа *Pichia* түрлерімен, атап айтқанда, *P. deserticola*, *P. manshurica* және *P. galeiformis* полифилетикалық қатынастарды көрсететін бірнеше монофилиялық топтар түзілді. *Pichia*-ның полифилетикалық табиғатын Курцман мен Робнетт барлық белгілі аскомицеттік ашытқыларды қамтитын гендік тізбектерді талдауда көрсетті. Үқтимал ұқсас консервацияланған аймақтардан басқа, реттіліктерді ұсыну кезіндегі алдыңғы номенклатура да *Elaeis* sp. *C. ethanolica*-ның жақын туыстары ретінде әртүрлі тұқымдас *Pichia* түрлерінің байқалуының себебі болуы мүмкін. Бұрын дерекқорға енгізілген аскомицеттік саңырауқұлақтарға олардың өмір сүру кезеңдеріне байланысты атаулар берілгені хабарланды. Мысалы, *Candida krusei* саңырауқұлақтарының атауы анаморфтық кезеңге негізделген, ал оның телеморфтық кезеңдік атауы *Pichia kudriavzevii* екені көрсетілді. Оның *Issatchenkia orientalis* деген ескі атауы да бар. Барлық *Candida* түрі алыс туыстас болуы мүмкін 850 организмнен тұрады. Осылайша, шатасуды болдырмау үшін 2011 жылы шілдеде Мельбурн қаласында өткен

Халықаралық ботаникалық конгресс саңырауқұлақтардың халықаралық номенклатуралық кодексіне өзгеріс енгізіп, бір саңырауқұлақтың бір ғана атауы болуы мүмкін деген қағиданы қабылдады және бөлек атауларға рұқсат беру жүйесін тоқтатты.



Сурет 8 - *Elaeis* пальма ағашынан алынған шарап ашытқысы *Candida ethanolica*-ның (HG425336-астын сызылған) филогенетикалық талдауы. Ағаш масштабта кішірейтілген, бұтақтардың ұзындығы әр учаскедегі ауыстырулар санымен өлшенеді.

***Sachharomyces cerevisiae*.** *S. cerevisiae* ашытқысы тамақ және сусын өндірісінде ең көп қолданылатын микроорганизм екені белгілі. Пальма шарабы бойынша да көптеген зерттеулерден оқшауланған басым ашытқы түрі болып табылады. Дегенмен, *S. cerevisiae* түр ретінде табиғи түрде пайда бола ма, әлде тек қолға үйретілген түр ретінде өмір сүре ме, белгісіз. *S. cerevisiae* штамдары генетикалық жағынан әртүрлі, бұл негізінен адамның әртүрлі ашыту процестеріне арнайы бейімделген штаммдарды әзірлеуге күш салуының нәтижесі болып саналады. Әртүрлі экологиялық факторлардан келетін бұл бейімделу қысымдары осы штамдар арасында айырмашылықтарды тудыруы мүмкін.

Пальма шарап ашытқыларының *S. cerevisiae* туыстары *Candida* түрлері үшін байқалған көптеген түрлер немесе әртүрлі тұқымдар арасында таралмаған.

Elaeis (8-сурет) және *Raphia* (9-сурет) үшін салынған *S. cerevisiae* ағаштары үшін екі түйін байқалды. Ашытқы штаммы *Elaeis* пальма шарабы ашытқысы өзінің туысының көпшілігінен басқа тармақта болды, ал *Raphia* пальма шарабы ашытқысы үшін керісінше болды.

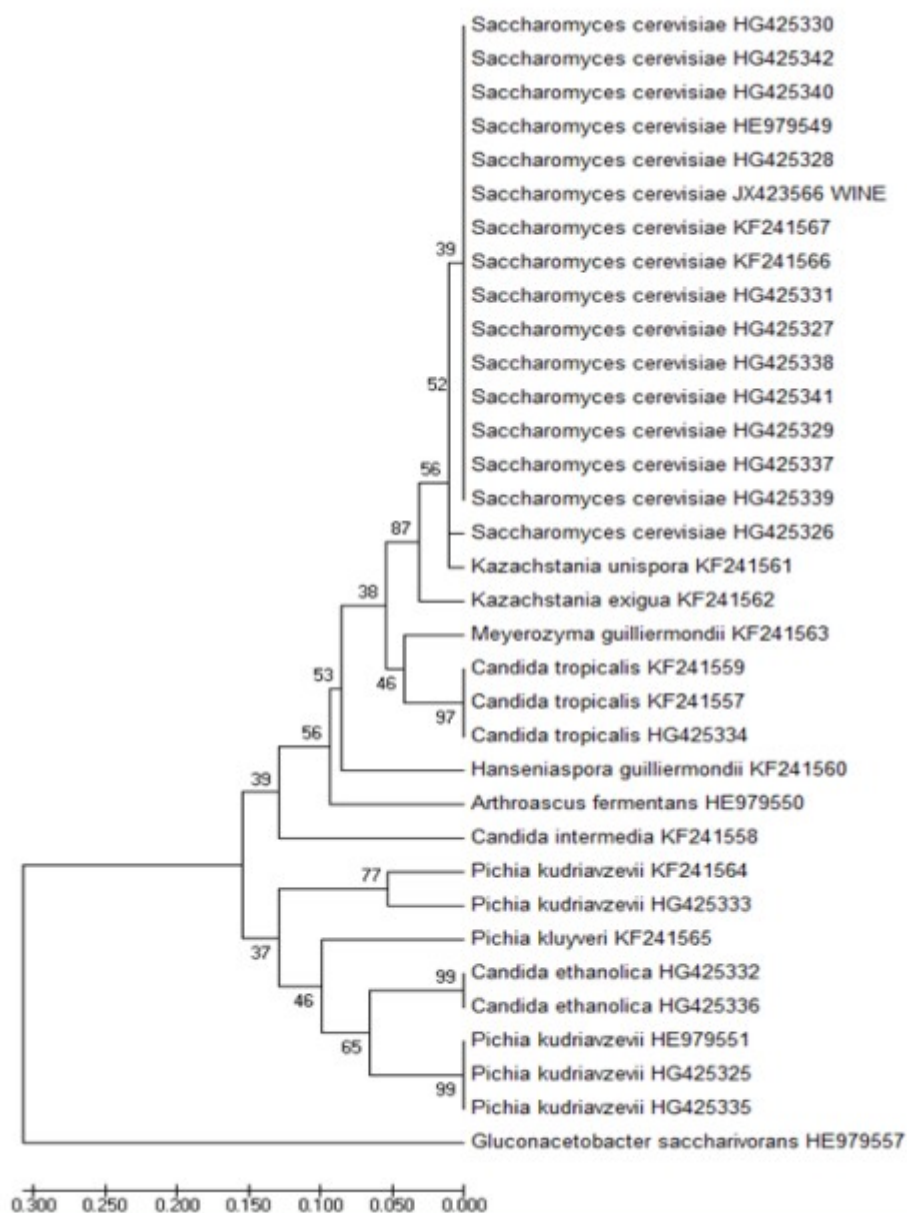


Сурет 9 - *Elaeis* пальма ағашынан алынған шарап ашытқысы *S. Cerevisiae*-ның (HG425328-астын сызылған) филогенетикалық талдауы. Ағаш масштабта кішірейтілген, бұтақтардың ұзындығы әр учаскедегі ауыстырулар санымен өлшенеді.

Candida түрлері үшін байқалғандай, *S. cerevisiae* түрлерін оқшаулау әртүрлі көздерден алынды. KU862639 және MF966566 қосылу нөмірлері бар пальма шарабы (HG425328, 9-сурет) ашытқылары жүзім бетінен және ашытылған алмұрттан, ал *Raphia* жақын туыстарынан бөлінген. GU080046 және HM191669 қосылу нөмірлері бар пальма шарабы (HG425338, 10-сурет) сығымдалған жүзімнен жасалған сусын Мусалайсты қайнату үшін пайдаланылатын өздігінен ашуға бейім және жүзім шырынынан оқшауланған болып келеді.

Ашытқылардың 99% әлі белгісіз және *S. cerevisiae* ашытуы белгілі бір субстратқа тән болуы мүмкін деп есептеледі, сондықтан әртүрлі пальма ағаштарынан *S. cerevisiae*-ны көбірек зерттеу қажет. *Saccharomyces* тұқымы бұрын екі топқа бөлінген, атап айтқанда *Saccharomyces sensu stricto* және

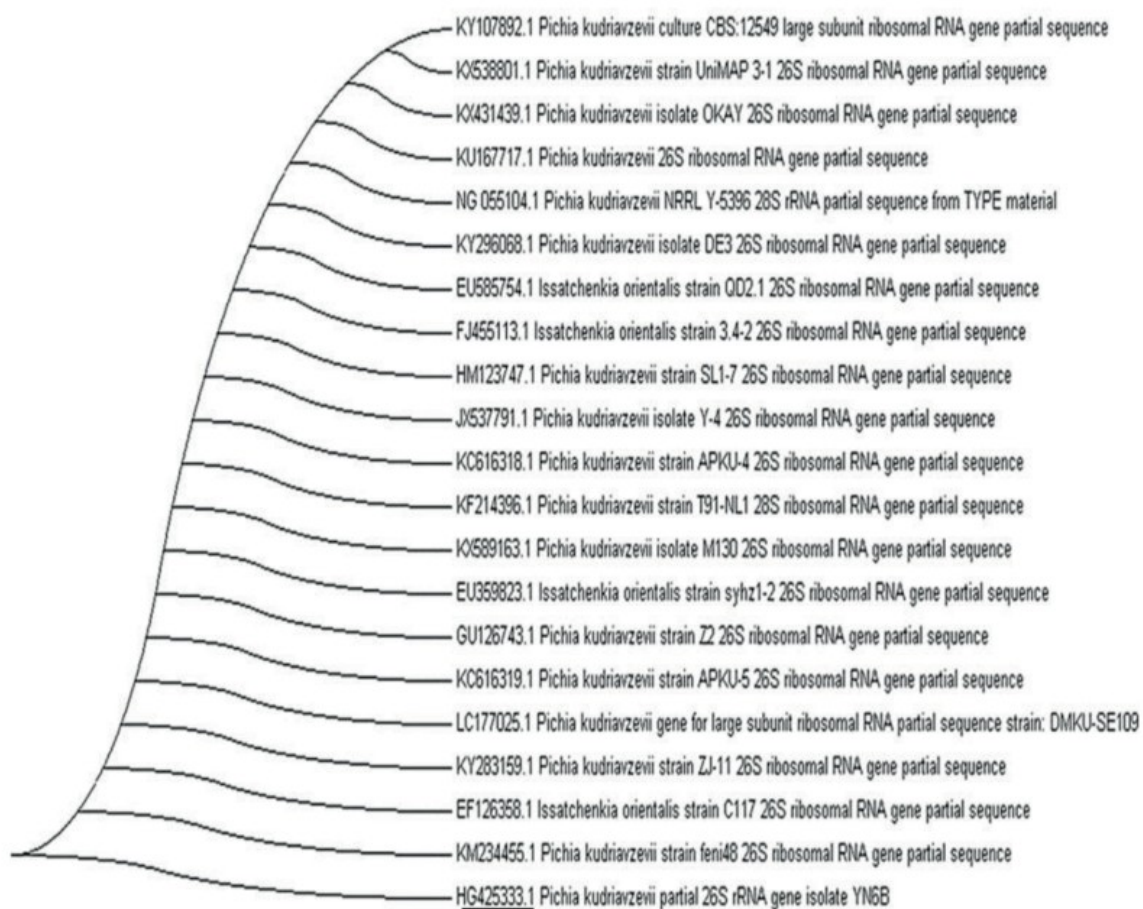
Saccharomyces sensu lato. *S. sensu stricto* штамдары негізінен ашыту өнеркәсібімен байланысты болып келеді [90, 91]. Бұл зерттеуде *S. cerevisiae* және оған жақын түрлердің салыстырмалы геномикалық талдауы жаңа түрлердің қалай пайда болатынын түсінуімізге ықпал етті және репродуктивті окшаулауға ықпал ететін әртүрлі механизмдерге жарық түсірді. Бұл білімді пальма шарабы ашытқыларына олардың жақсы сипатталған ашытқылардан айырмашылығын анықтау үшін қолдануға болады.



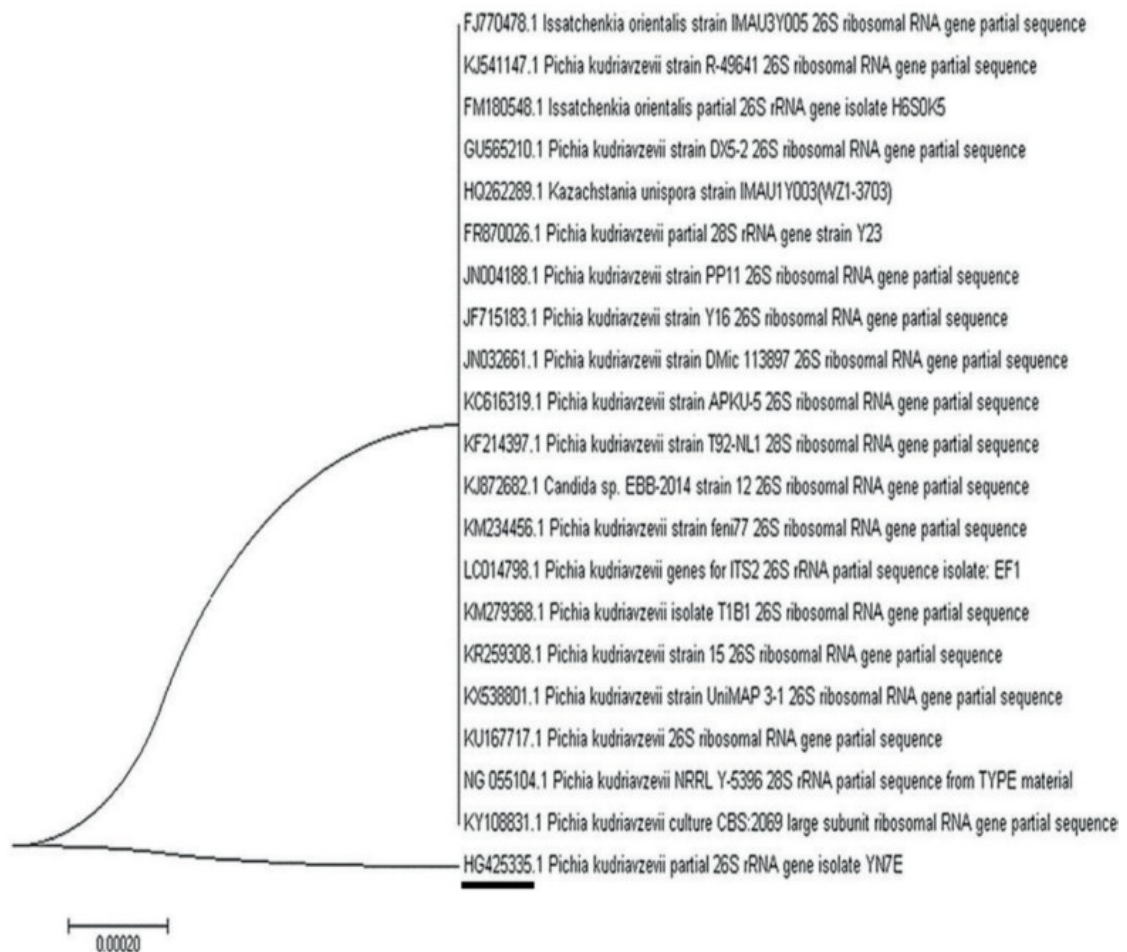
Сурет 10 - *Raphia* пальма ағашынан алынған шарап ашытқысы *S. cerevisiae* –ның (HG425338-астын сызылған) филогенетикалық талдауы. Ағаш масштабта кішірейтілген, бұтақтардың ұзындығы әр учаскедегі ауыстырулар санымен өлшенеді.

***Pichia kudriavzevii*.** Пальма шарабында болатын ашытқылардың соңғы молекулалық зерттеулерінен *Pichia kudriavzevii* ашытқы түрі сусындағы кең таралған *Saccharomyces* емес ашытқы түрі ретінде пайда болды. Бұл ашытқы түрі пробиотикалық потенциалды және мультистресске төзімділікті көрсетті. Сонымен қатар, кейбір *P. kudriavzevii* штамдары 45°C температурада *S. cerevisiae* кәдімгі жасушаларына қарағанда лигноцеллюлозды биомассадан этанолдың көп мөлшерін шығара алатыны анықталған. *P. kudriavzevii* үшін

жасалған ағаш *S. cerevisiae* немесе *Candida* пальмалық шарап ашытқыларының туыстарымен салыстырғанда ең аз айырмашылықты көрсетті. Барлық туыстары мен *Elaeis* пальма шарабы штаммы (HG425333) бір түйіннен пайда болып, бөлек таксономиялық бірліктерді құрады (сурет 7). Керісінше, *Raphia* палма ағашының *P. kudriavzevii* (HG425335) пальма шарап ашытқысы бөлек топты құрады және туыстарымен бір бұтаққа жатпады (8 -сурет). Бұл түр ішілік әртүрлілікті көрсетеді және бұрын хабарланған қорытындыларды растайды. Бұл зерттеуде түр ішілік әртүрлілік ұсынылды, себебі *P. kudriavzevii* (HG425335) пальма шарабы ашытқысы бір географиялық орналасу изоляттарының орнына Мексикадан алынған пальма шарабы изоляттарымен бөлек топтаманы құрады. *P. kudriavzevii* штамдарының жақын туыстарының реттілігінде қамтылған ақпарат оқшаулаудың әртүрлі көздерін көрсетеді.



Сурет 11 – *Elaeis* пальма ағашынан алынған шарап ашытқысы *P. Kudriavzevii* - ның (HG425333-астын сызылған) филогенетикалық талдауы. Ағаш масштабта кішірейтілген, бұтақтардың ұзындығы әр учаскедегі ауыстырулар санымен өлшенеді.



Сурет 12 – *Raphia* пальма ағашынан алынған шарап ашытқысы *P. kudriavzevii* - ның (HG425333-астын сызылған) филогенетикалық талдауы. Ағаш масштабта кішірейтілген, бұтақтардың ұзындығы әр учаскедегі ауыстырулар санымен өлшенеді.

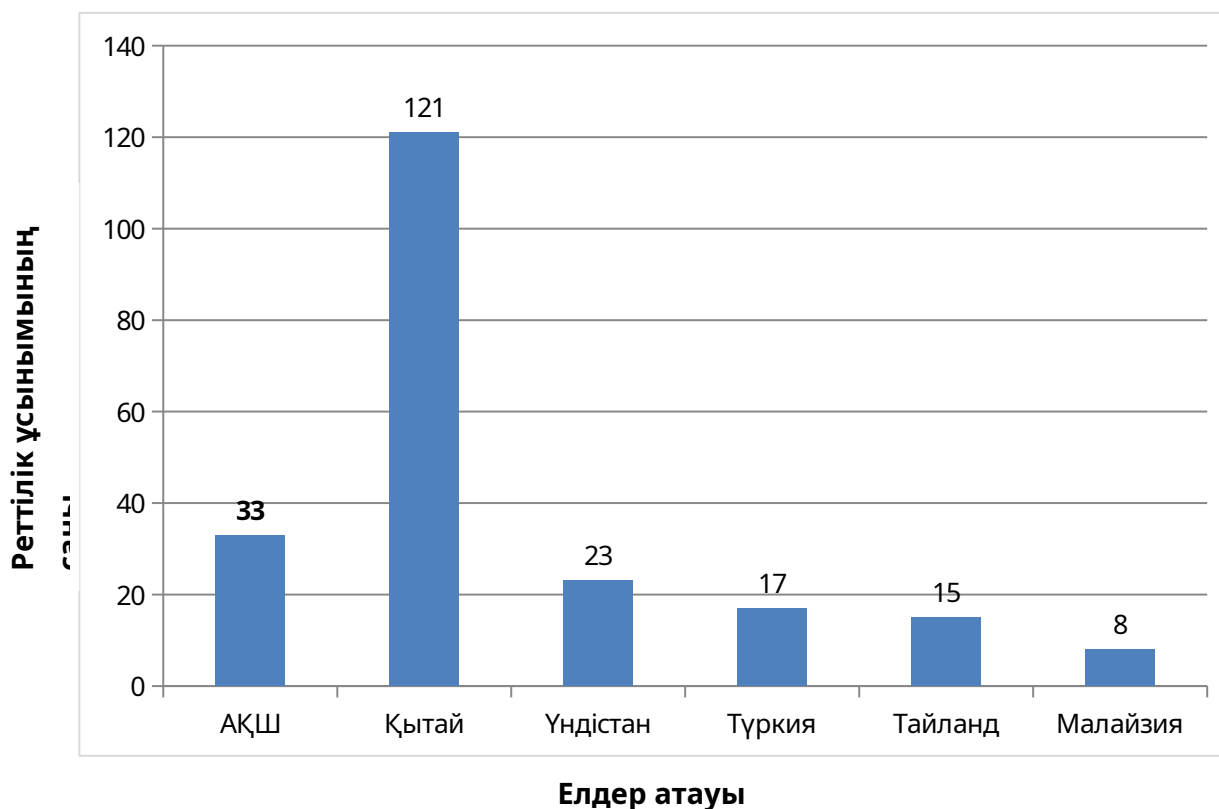
P. kudriavzevii штамдарының жақын туыстарының тізбегін ұсынуда қамтылған ақпарат оқшаулаудың әртүрлі көздеріне де нұсқайды. *Elaeis* пальма ағашынан алынған ашытқыларына жақын штамдар KY283159 және KM234455 қосылу нөмірлері аралас акваөсіру микробтық ұнтақтарынан және табиғи ашытылған кешью алма шырынынан алынғанын көрсетеді, ал *Raphia* пальма ағашынан алынған ашытқыларына жақын штамдар KU167717 тоқыма бұйымдарын бояу кезінде белсенді тұнбадан бөлініп алынған.

3.2 Пальма шарабы ашытқыларының географиялық шығу тегі мен көздері

Құрылған филогенетикалық ағаштардан өте жақын туыстарының көздерін анықтағаннан кейін, жоғарыда аталған ашытқы штамдарынан алынған қысқа тізімге енгізілген 600 тізбегі қосымша зерттелді және табылған ақпарат

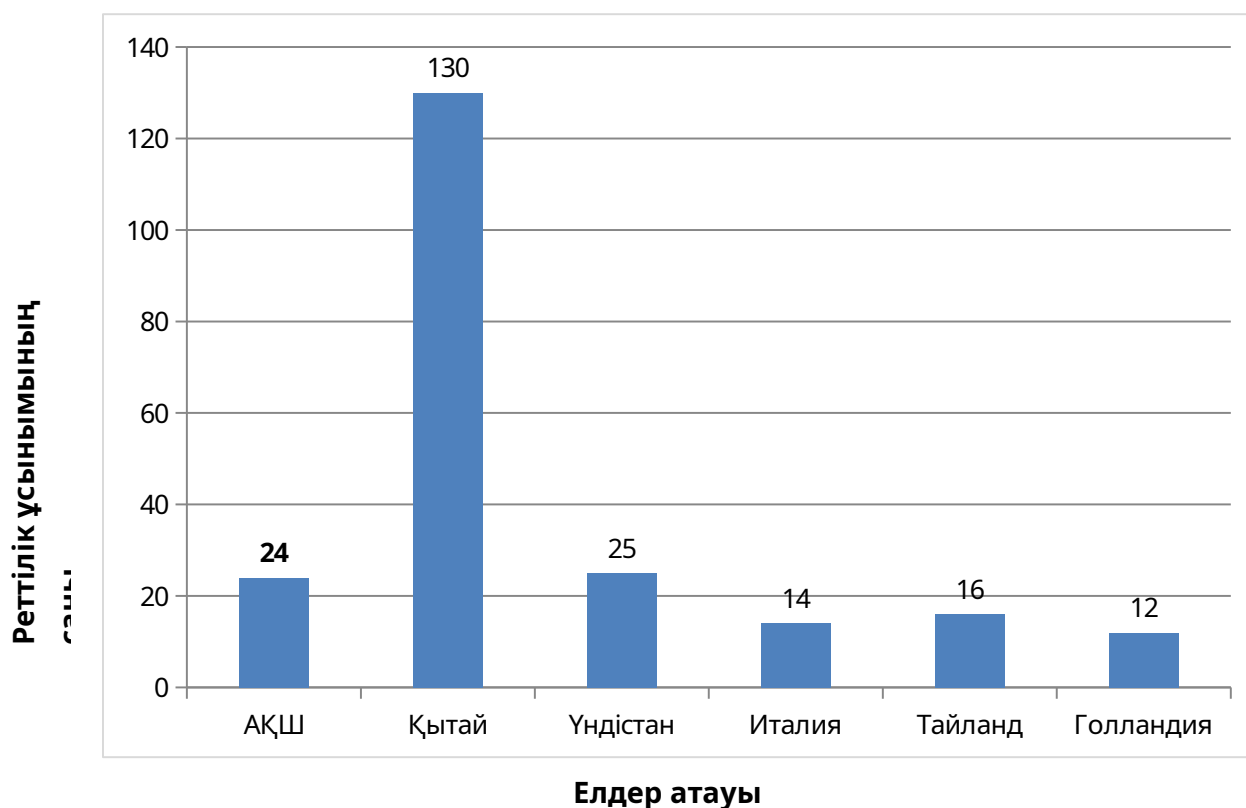
изоляцияларды оқшауланған елге, тағамға, сусынға және жеуге жарамсыз деп топтау үшін пайдаланылды [92, 93].

Жалпы, жоғарыда аталған ашытқылар тұқымдастары үшін зерттелген тізбектер 38 елден ұсынылды және бұл зерттеуде ең жақсы 6 ел ұсынылған. Екі *Elaeis* және *Raphia* үшін реттілік деректері Genbank дерекқорына ең көп өтініштер Қытайдан келгенін көрсетеді.



Сурет 13 - *Elaeis* пальма ағашынан алынған шарап ашытқыларының тізбегін GenBank-ке ұсынған үздік алты ел.

Гистограммадан байқағанымыздай, пальма шарабы ашытқыларының туыстары шыққан үш ел екі пальма түріне де бірдей болды. Бұл пальма шарабы ашытқыларының көп санының Қытайда табылған ашытқылармен ортақ ата-бабалары болуы мүмкін екенін көрсетеді. Пальма шарабы ашытқыларының туыстарының шығу тегі немесе көздері сусындар, азық-түлік және азық-түлік емес көздер арқылы таралған. Осы көздерден *S. cerevisiae*, *P. kudriavzevii* және *C. ethanolica* таралуы *Elaeis* және *Raphia* пальма ағашынан алынған. *Elaeis* және *Raphia* пальма ағаштарынан алынған *S. cerevisiae* және *P. kudriavzevii* ашытқы түрлерінің туыстары негізінен сусын көздерінен, ал *C. ethanolica* түрлерін ұсынатын туыстар азық-түлік емес көздерден алынған.



Сурет 14 - *Raphia* пальма ағашынан алынған шарап ашытқыларының тізбегін GenBank-ке ұсынған үздік алты ел.

Raphia пальма ағашынан алынған шарап ашытқыларының тізбегін GenBank-ке ұсынған үздік алты ел 10-суретте көрсетілген. Көшті бастап тұрған Қытай, АҚШ және Үндістан елдері. Ал, Италия, Тайланд және Голландия көрсеткіштері шамалас болып келеді. Кезеңдік деректер әртүрлі ағаштардан алынған пальма шарап ашытқыларын салыстыру үшін пайдалы. Деректер пальма шарабы ашытқыларының туыстары басым болатын елдерді көрсетеді және эволюция мен түрлердің миграциясын зерттеу үшін пайдалы болуы мүмкін.

Геномдық зерттеулердегі жылдам прогресс сахаромицтердің популяция құрылымы мен эволюциялық тарихын жақсырақ түсінуге әкелді. Шарап штаммдарының шарап жасау жағдайларына бейімделу үшін әртүрлі генетикалық механизмдерді қолданатынын көрсететін шарап штаммдарының бейімделуіне дәлелдер келтірілді [94]. «Шарап» экологиялық тауашалары мен басқа мекендеу орындарынан оқшауланған геномды декодталған штаммдардың жиынтығын кеңейту сахаромицеттердің эволюциялық тарихын және геномдық пластиканың әртүрлі механизмдерінің салыстырмалы үлесін жақсы түсінуге мүмкіндік береді. Геномдық тізбектердің айтарлықтай санының болуы шарап жасау сипаттамаларына жауапты аллельдік нұсқаларды және дивергентті аймақтарды анықтауды жеңілдетуі керек. Мысалы, күрт әр түрлі өмір салты бар тығыз байланысты топтарға жататын херес және шарап ашытқыларының осы

қуыстарға бейімделуін түсіндіретін дивергентті учаскелерді анықтаудың барабар үлгісін бере алады [95].

Ашытқылардың шарап ашыту жағдайларына жауап беруі мен бейімделуінің негізінде жатқан жасушалық функциялардың табиғаты туралы жаңа маңызды ақпарат генетикалық, протеомдық және транскриптомиялық тәсілдер арқылы алынды . Осылайша, қазіргі заманғы геномдық және постгеномдық биоақпараттық құралдарды қолдану ашытқы штамдарының фенотиптік әртүрлілігінің негізінде жатқан молекулалық айырмашылықтардың табиғатын, молекулалық-генетикалық деректер мен белгілі бір өндірістік көрсеткіштер арасындағы байланыстарды түсінуді айтарлықтай тереңдетеді. Бұл табыстар «классикалық» және заманауи әдістерді қолдана отырып, бағытталған іріктеу және жаңа штамдарды құру және шарап жасау технологияларын жетілдіру стратегияларын әзірлеуге ықпал ететіні анық.

ҚОРЫТЫНДЫ

Тәжірибелік зерттеу нәтижелерінен мынандай тұжырымдар жасалынды:

1. *C. ethanolica* штаммы басқа *Candida* түрлерімен тығыз байланыста екенін көрсетті. *Raphia* туыстары бір түйіннен шыққан пальма шарабы әртүрлі көздерден пайда болған. *C. ethanolica* (HG425332) жанындағы жақын туыстары (KY283163 және DQ466540) Қытайдағы аквакультураға және Ганадағы күрделі какао ашытуға арналған аралас микробтық ұнтақтардан бөлініп алынған.

2. *Elaeis* және *Raphia* ағаштары үшін зерттелген *S. cerevisiae*-ға қатысты екі түйін байқалды. Ашытқы штаммы *Elaeis* пальма шарабы ашытқысы өзінің туысының көпшілігінен басқа тармақта болды, ал *Raphia* пальма шарабы ашытқысы үшін керісінше болды.

3. *P. kudriavzevii* үшін жасалған ағаш *S. cerevisiae* немесе *Candida* пальмалық шарап ашытқыларының туыстарымен салыстырғанда ең аз айырмашылықты көрсетті. Барлық туыстары мен *Elaeis* пальма шарабы штаммы (HG425333) бір түйіннен пайда болып, бөлек таксономиялық бірліктерді құрады. Керісінше, *Raphia* пальма ағашының *P. kudriavzevii* (HG425335) пальма шарап ашытқысы бөлек топты құрады және туыстарымен бір бұтаққа жатпады. Бұл түр ішілік әртүрлілікті көрсетеді және бұрын хабарланған қорытындыларды растайды.

4. *Elaeis* және *Raphia* пальма ағаштарынан алынған шарап ашытқылары үшін нуклеотидтік тізбектің реттілік деректері Genbank дерекқорына ең көп өтініштер Қытайдан келгенін көрсетеді.

5. *S. cerevisiae*, *P. kudriavzevii* және *C. ethanolica* таралуы *Elaeis* және *Raphia* пальма ағашынан алынған. *Elaeis* және *Raphia* пальма ағаштарынан алынған *S. cerevisiae* және *P. kudriavzevii* ашытқы түрлерінің туыстары негізінен сусын көздерінен, ал *C. ethanolica* түрлерін ұсынатын туыстар азық-түлік емес көздерден алынған.

Пальма шарабындағы *S. cerevisiae* және *S. cerevisiae* емес ашытқылар туралы көбірек түсіну сусындағы ашытқылардың әлеуеті туралы көбірек ақпарат алу немесе жаңа түрлерді ашу үшін қажет. Қазіргі заманғы геномдық және постгеномдық биоақпараттық құралдарды қолдану ашытқы штамдарының фенотиптік әртүрлілігінің негізінде жатқан молекулалық айырмашылықтардың табиғатын, молекулалық-генетикалық деректер мен белгілі бір өндірістік көрсеткіштер арасындағы байланыстарды түсінуді айтарлықтай тереңдетеді. Бұл табыстар «классикалық» және заманауи әдістерді қолдана отырып, бағытталған іріктеу және жаңа штаммдарды құру және шарап жасау технологияларын жетілдіру стратегияларын әзірлеуге ықпал ететіні анық.

ҰСЫНЫС ЖӘНЕ ПІКІРЛЕР

Көптеген зерттеулер *S. cerevisiae*-нің биохимиялық және геномдық қасиеттерін түсінуге көмектескенімен, ашытқы түрлері толық қамтылмағанын көрсетеді. Пальма шарабындағы *S. cerevisiae* және *S. cerevisiae* емес ашытқылар туралы көбірек түсіну сусындағы ашытқылардың әлеуеті туралы көбірек ақпарат алу немесе жаңа түрлерді ашу үшін қажет. Қосымша ақпарат алу үшін көптеген зерттеушілер молекулалық сипаттаманы қолданды және бұл сусынның жаңа ашытқы штаммдарын дұрыс анықтауға әкелді. Қазақстанда өндірілітін шараптар тек жүзімнен алынады. Пальма шарабы Қазақстанда пальма ағашының болмауына байланысты өндірілмейді және қолданыста жоқ. Дегенменде, пальма шарабының құрамына ұқсас шарапты жеміс ағаштарынан алуға болады. Атап айтсақ, алмұрт, алма және шие ағаштарынан шарап өндіруге болады. Пальма шарабындағы *S. cerevisiae* және *S. cerevisiae* емес ашытқылар туралы зерттеулер шарап ашытқыларының жаңа штаммдарын дұрыс анықтауға және жаңа биохимиялық қасиеттерін анықтауға алып келді. Сондықтанда менің ұсынысым, алмұрт, алма немесе шие ағаштарынан шарап өндіруді дамыту және олардан алынатын ашытқыларды зерттеу қажет. Мұндай зерттеулер шарап сусындағы ашытқылардың әлеуеті туралы көбірек ақпарат алуға және жаңа түрлерді ашу үшін қажет. Сонымен қатар, жүзімге қарағанда, аталған жеміс ағаштарына деген күтіп – баптау жұмыстары жеңіл болғандықтан тиімділігі жоғары болатыны анық.

