

УДК 663.252.41: 575.22

DOI 10.30679/2219-5335-2022-5-77-286-297

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТЕРДЕЛЬТА
АНАЛИЗА ДЛЯ ОЦЕНКИ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ
ШТАММОВ *SACCHAROMYCES
CEREVISIAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ
С ЯГОД СОРТОВ ВИНОГРАДА
ШАРДОНЕ И ДОСТОЙНЫЙ
В АНАПО-ТАМАНСКОЙ ЗОНЕ
ВИНОГРАДАРСТВА***

Лободина Елена Вадимовна
младший научный сотрудник
селекционно-биотехнологической
лаборатории
e-mail: alyona2255@yandex.ru

Супрун Иван Иванович
канд. биол. наук
руководитель ФНЦ
«Селекции и питомниководства»
e-mail: supruni@mail.ru

Агеева Наталья Михайловна
д-р техн. наук, профессор
главный научный сотрудник
лаборатории виноделия
e-mail: ageyeva@inbox.ru

Аль-Накиб Екатерина Аделевна
младший научный сотрудник
селекционно-биотехнологической
лаборатории
e-mail: ealnakib@mail.ru

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский федеральный
научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия»,
Краснодар, Россия*

В последние годы многие винодельни
решили избегать использования
коммерческих штаммов *S. Cerevisiae*
в качестве стартеров брожения,

UDC 663.252.41: 575.22

DOI 10.30679/2219-5335-2022-5-77-286-297

**THE USE OF INTERDELTA
ANALYSIS TO ASSESS
THE GENETIC RELATIONSHIPS
OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*
STRAINS ISOLATED FROM
THE BERRIES OF CHARDONNAY
AND DOSTOYNYI VARIETIES
IN THE ANAPA-TAMAN
VITICULTURE ZONE***

Lobodina Elena Vadimovna
Junior Research Associate
of Breeding and Biotechnology
Laboratory
e-mail: alyona2255@yandex.ru

Suprun Ivan Ivanovich
Cand. Biol. Sci.
Head of Breeding
and Nursery FSC
e-mail: supruni@mail.ru

Ageyeva Natalia Mikhailovna
Dr. Sci. Tech., Professor
Chief Research Associate
of Wine-making Laboratory
e-mail: ageyeva@inbox.ru

Al-Nakib Ekaterina Adelevna
Junior Research Associate
of Breeding and Biotechnology
Laboratory
e-mail: ealnakib@mail.ru

*Federal State Budget
Scientific Institution
«North Caucasian Federal
Scientific Center of Horticulture,
Viticulture, Wine-making»,
Krasnodar, Russia*

In recent years, many wineries have
chosen to avoid using commercial
S. cerevisiae strains as fermentation
starters, and preferred the use

* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-316-90049

* The reported study was funded by RFBR according to the research project № 20-316-90049

а предпочитали использование автохтонных отобранных штаммов в качестве энологической стратегии, позволяющей сочетать промышленные преимущества инокулированного брожения с подлинностью и типичностью спонтанной ферментации, проводимой местными штаммами *S. cerevisiae*. Одной из важных задач при поиске автохтонных штаммов *S. cerevisiae* является оценка генетической идентичности штаммов, их генетического разнообразия. С этой целью успешно используется метод Interdelta генотипирования. В работе представлены результаты interdelta генотипирования 49 автохтонных штаммов *S. cerevisiae*, изолированных на винограде Белого и красного сортов на территории Краснодарского края, при использовании трех праймерных пар $\delta 1 + \delta 2$, $\delta 12 + \delta 2$, $\delta 12 + \delta 21$. Установлено, что при использовании праймерных пар $\delta 12 + \delta 2$ и $\delta 12 + \delta 21$ у образцов амплифицировалось суммарно до 14 фрагментов. При использовании праймерной пары $\delta 1 + \delta 2$ - 11 фрагментов. С праймерной парой $\delta 12 + \delta 21$ у исследуемых образцов формировалось 5 и 6 групп генетического сходства, что выше, чем при использовании других типов δ пар. Согласно полученной по результатам интердельта анализа дендрограмме, построенной с использованием метода UPGMA, штаммы были распределены по 2 основным группам, причем в первую группу вошли только дрожжи, изолированные на винограде сорта Достойный (19 из 28 штаммов). Во вторую группу вошли 9 штаммов, изолированных на винограде сорта Достойный и все штаммы, изолированные на винограде сорта Шардоне, которые в свою очередь были объединены в субкластеры. Данные исследования позволяют сделать предварительные выводы о специфичности генотипов автохтонных дрожжей, находящихся на поверхности винограда белых и красных сортов.

Ключевые слова: ВИННЫЕ ДРОЖЖИ, *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, ШТАММЫ, INTERDELTA ГЕНОТИПИРОВАНИЕ, ДЕНДРОГРАММА

of autochthonous selected strains as an oenological strategy that allows combining the industrial advantages of inoculated fermentation with the authenticity and typicality of spontaneous fermentation by native *S. cerevisiae* strains. One of the important tasks in the search for autochthonous strains of *S. cerevisiae* is the assessment of the genetic identity of strains and their genetic diversity. The interdelta genotyping method is successfully used for this purpose. The paper presents the results of interdelta genotyping of 49 autochthonous *S. cerevisiae* strains isolated on white and red grape varieties on the territory of the Krasnodar region, using three primer pairs $\delta 1 + \delta 2$, $\delta 12 + \delta 2$, $\delta 12 + \delta 21$. It was found that when primer pairs $\delta 12 + \delta 2$ and $\delta 12 + \delta 21$ were used, 14 different patterns were formed in the samples. When using the primer pair $\delta 1 + \delta 2$ - 11 patterns. With the primer pair $\delta 12 + \delta 21$, 5 and 6 groups of genetic similarity were formed in the studied samples, which is higher than when using other types of δ pairs. According to the dendrogram obtained from the results of the interdelta analysis and constructed using the UPGMA method, the strains were divided into 2 main groups, and the first group included only yeasts isolated on the Dostoinyi grape variety (19 out of 28 strains). The second group included 9 strains isolated on the Dostoinyi grape variety and all strains isolated on the Chardonnay grape variety, which in turn were combined into subclusters. Data of studies allow us to draw preliminary conclusions about the specificity of the genotypes of autochthonous yeasts found on the surface of white and red grape varieties.

Key words: WINE YEAST, *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, STRAINS, INTERDELTA GENOTYPING, DENDROGRAM

Введение. В настоящее время, в соответствии с потребительскими предпочтениями, появились новые тенденции в ферментации вина и технологии виноделия. Все большую популярность обретает направление производства специфичных вин, которые выражают их терруар, с хорошим балансом кислотности и вкусовых ощущений и которые можно отличить друг от друга. Хорошо известно, что вина, изготовленные с использованием местных штаммов *S. cerevisiae*, воспринимаются как более сложные, демонстрируя большее разнообразие вкусов, когда эти дрожжи производят различное количество побочных продуктов брожения [1].

Идентификация *Saccharomyces cerevisiae* на уровне штамма является фундаментальным аспектом в изучении биоразнообразия дрожжей и изучении динамики популяции во время ферментативного процесса [2]. Внутри-видовая классификация *S. cerevisiae* также важна для выбора стартовой культуры [3] и для контроля хода брожения. С развитием молекулярных методов открылись новые возможности типирования винных дрожжей, такие как анализ полиморфизма длин фрагментов рестрикции митохондриальной ДНК (RFLP), ДНК-фингерпринтинг с использованием микросателлитных маркеров [4], AFLP - анализ (amplified fragment length polymorphism), анализ мультилокусного типирования последовательности (MLST) [5].

Однако вышеперечисленные подходы в генотипировании дрожжей достаточно методически сложны в исполнении. Альтернативным методом типирования генетического разнообразия штаммов дрожжей выступает интердельта анализ. Данный подход является простым, быстрым и надежным методом мониторинга штаммов дрожжей во время ферментации вина. Идентификация штаммов дрожжей методом интердельта анализа, предложенным в 1993 году, основана на полиморфизме длин амплифицированных фрагментов, расположенных между дельта-элементами [6]. Дельта-элементами называются фланкирующие LTR-области ретротранспозонов TY1 и TY2, обнаруженные в геноме *Saccharomyces cerevisiae* [7]. Также дельта-элементы могут присутствовать в геноме дрожжей отдельно

от ретротранспозонов, такие участки ДНК получили название сольные дельта-элементы [8].

Первоначально для проведения интердельта анализа были разработаны праймеры $\delta 1 + \delta 2$ для анализа внутривидовой изменчивости и для дифференциации штаммов *S. cerevisiae* [6, 9]. Позже метод был дополнен новой парой праймеров $\delta 12 + \delta 21$ и показано, что использование сочетаний праймеров $\delta 12 + \delta 21$ и $\delta 12 + \delta 2$ позволяет установить больший полиморфизм у анализируемых штаммов. С помощью новых праймеров были однозначно дифференцированы 53 промышленных, лабораторных и диких штамма дрожжей. Также выяснилось, что праймер $\delta 12$ гораздо более эффективен, чем $\delta 1$ [8]. Шуллер и др. позже подтвердили это, показав, что комбинация $\delta 2$ и $\delta 12$ может идентифицировать в два раза больше штаммов, чем набор праймеров $\delta 1 + \delta 2$ [10]. В мировом опыте достаточно много работ, посвященных исследованиям типирования дрожжей на основе полимеразной цепной реакции с использованием последовательности генома дрожжей. Так, коллективом ученых проанализировано большое количество штаммов дрожжей с двух виноделен, а именно 1600 штук, по двум парам праймеров $\delta 1 + \delta 2$ и $\delta 12 + \delta 2$ [11]. Группа ученых в 2011 году проанализировала более 330 колоний методом ПЦР-амплификации дельта-последовательностей с использованием пары праймеров дельта12-дельта 2. С помощью данной методики можно было не только дифференцировать, но также оценить относительную долю каждого штамма в ходе процесса ферментации [12]. В Италии в ходе исследований, проводившихся с помощью трех методов молекулярного генотипирования, включая метод интердельта анализа с праймерами $\delta 2 + \delta 12$, 39 штаммов винных дрожжей дали 21 различный профиль [13]. В 2022 году китайскими учеными был проведен дельта-анализ 290 штаммов *S. Cerevisiae* с помощью праймерных пар $\delta 12 + \delta 21$, который в результате дал 33 различных генотипа, и ни один из них не совпадал с профилями коммерческих штаммов, используемых китайскими виноделами [14]. Хотя, в нескольких исследованиях сообщалось, что не-

сколько штаммов *S. cerevisiae*, выделенных в результате спонтанного брожения, имеют один и тот же генетический паттерн с коммерческими штаммами дрожжей, обычно используемыми в соответствующем винодельческом регионе [15]. Ливанские ученые исследовали биоразнообразие дрожжей четырех сортов винограда, изоляты с которых были охарактеризованы путем амплификации с использованием пары праймеров $\delta 12 + \delta 21$, что позволило идентифицировать 96 штаммов *S. cerevisiae* [16]. Сотрудниками нашего научного центра также активно ведется изучение внутривидового разнообразия *S. cerevisiae* с помощью интердельта анализа [17].

Целью наших исследований была оценка генетического разнообразия штаммов *S. cerevisiae*, изолированных на винограде красного и белого сортов.

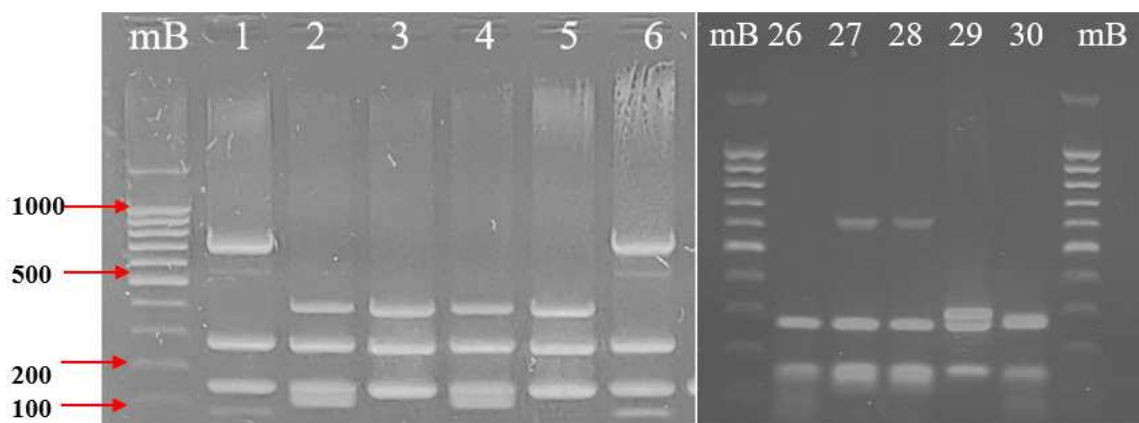
Объекты и методы исследований. Объектами исследования послужили автохтонные штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, изолированные на виноградниках Краснодарского края, г. Анапа «Анапская ампелографическая коллекция» АЗОСВиВ в 2020 году. Отбор штаммов проводили на винограде двух сортов – Шардоне (белый сорт) и Достойный (красный сорт). Отбор проб винограда, сбраживание и изолирование монокультур проводили по методикам, описанным в работе И.И. Супруна др. [18]. Суммарное количество изолированных монокультур составило 60 образцов (по 30 колоний с каждого сорта). Экстракцию ДНК выполняли согласно рекомендациям [19]. Для идентификации видовой принадлежности использовали праймеры ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') / ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') и эндонуклеазу рестрикции HaeIII [20]. Интердельта анализ проводили с использованием праймерных пар $\delta 1$ (5'-CAAAATTTCACSTATATCT-3') + $\delta 2$ (5'-GTGGATTTTATTCCAAC-3'), $\delta 2$ + $\delta 12$ (5'-TCAACAATGGAATCCCAAC-3') и $\delta 12$ + $\delta 21$ (5'-CATCTTAACACCGTATATGA-3'). ПЦР проводили согласно условиям, описанным в работе [8].

Оценка генетических взаимосвязей была выполнена в программе PAST 4.03 с помощью метода попарного внутригруппового невзвешенного среднего (UPGMA).

Обсуждение результатов. Видовая идентификация автохтонных штаммов дрожжей, изолированных на винограде сортов Шардоне и Достойный, позволила выделить штаммы дрожжей, принадлежащие к виду *S. cerevisiae*. Так, на винограде сорта Достойный количество штаммов *S. cerevisiae* составило 28 изолятов, на винограде сорта Шардоне – 21 изолят.

Таким образом, была получена выборка дрожжей *S. cerevisiae* общим количеством 49 образцов для дальнейшей оценки степени генетической близости с использованием метода interdelta анализа.

С использованием праймерной пары $\delta 1 + \delta 2$ было выявлено от двух до пяти фрагментов в спектре. Пример электрофоретического разделения продуктов амплификации с данной комбинацией праймеров приведен на рисунке 1.



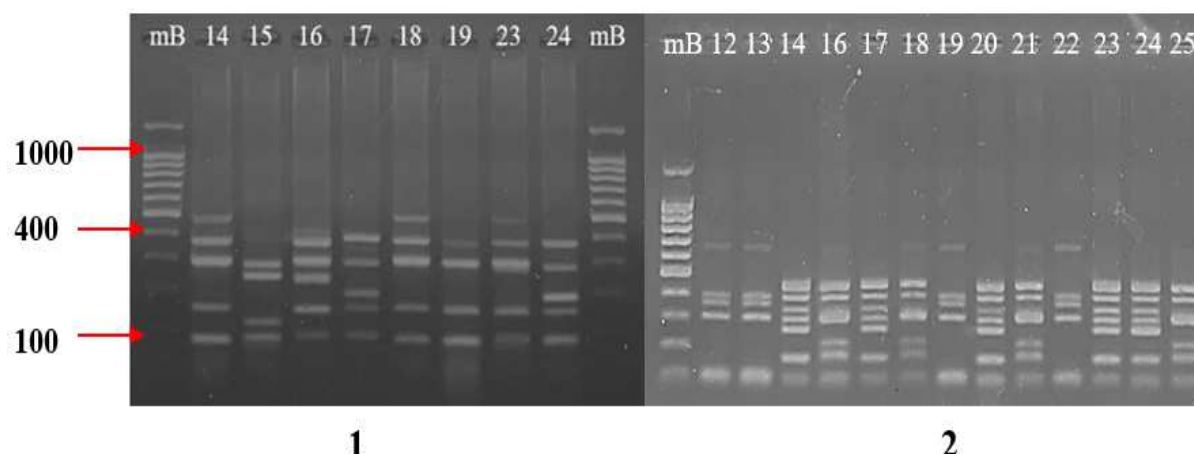
Примечания: mB – маркер молекулярного веса (100 pb); 1-6 штаммы дрожжей, изолированные на винограде сорта Достойный; 26-30 штаммы дрожжей, изолированные на винограде сорта Шардоне

Рис. 1. Электрофореграмма продуктов ПЦР с использованием праймерной пары $\delta 1 + \delta 2$

В результате использования праймерной пары $\delta 1 + \delta 2$ для генотипирования дрожжей, изолированных на винограде сорта Достойный, было

выявлено от трех до пяти фрагментов, это позволило установить три группы генотипов дрожжей по типу спектра. В свою очередь, дрожжи, изолированные на винограде сорта Шардоне, имели от двух до четырех фрагментов в спектре и разделились на четыре различных группы по типам спектра. Суммарное количество фрагментов, полученных при использовании праймерной пары $\delta 1 + \delta 2$ составило 11. Аналогичные исследования были проведены Шуллер с соавт., которые в своей работе для 23 штаммов выделили 10 различных групп по типам спектра [10].

С использованием праймерной пары $\delta 2 + \delta 12$ амплифицировалось от 3 до 7 фрагментов в спектре у исследуемых образцов (рис. 2).

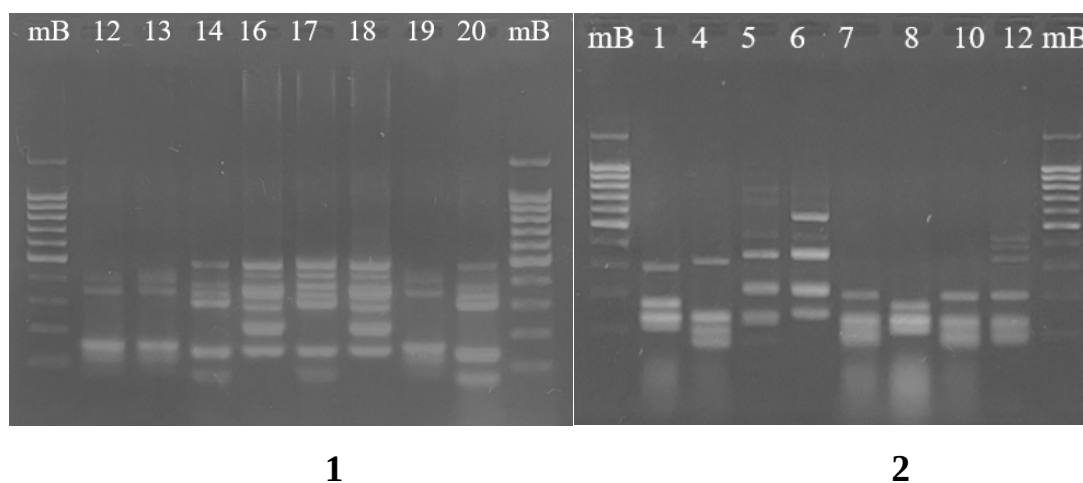


Примечания: mB – маркер молекулярного веса (100 pb); 1 – штаммы дрожжей, изолированные на винограде сорта Шардоне; 2 - штаммы дрожжей, изолированные на винограде сорта Достойный

Рис. 2. Электрофореграмма продуктов ПЦР, полученных с использованием праймерной пары $\delta 2 + \delta 12$

Анализ электрофореграмм позволяет судить о том, что штаммы, изолированные на разных сортах винограда, отличались по типам спектров. Так, штаммы, изолированные на винограде сорта Шардоне, имели от трех до шести фрагментов в спектре и разделились на четыре группы с одинаковыми типами спектра, а штаммы, изолированные на винограде сорта Достойный, – от трех до семи и разделились также на четыре группы. В общей сложности при использовании праймерной пары $\delta 2 + \delta 12$ амплифицировалось 14 фрагментов.

Использование праймерной пары $\delta 12+\delta 21$ позволило идентифицировать суммарно 14 фрагментов у исследуемых образцов (рис. 3). Так, штаммы, изолированные на винограде сорта Шардоне, были объединены в пять групп по типу спектра, в том числе 6 образцов обладали уникальным набором фрагментов. Образцы, изолированные на винограде сорта Достойный, разделились на шесть групп с одинаковым типом спектра, один из исследуемых образцов обладал уникальным набором фрагментов.



Примечания: mB – маркер молекулярного веса (100 pb); 1 - штаммы дрожжей, изолированные на винограде сорта Достойный; 2 - штаммы дрожжей, изолированные на винограде сорта Шардоне

Рис. 3. Электрофореграмма продуктов ПЦР с использованием праймерной пары $\delta 12+\delta 21$

Таким образом, при использовании праймерных пар $\delta 2+\delta 12$ и $\delta 12+\delta 21$ амплифицировалось по 14 фрагментов, штаммы были дифференцированы в группы с одинаковыми генетическими профилями.

По результатам интердельта генотипирования автохтонных штаммов *S. cerevisiae* была выполнена оценка генетических взаимосвязей изученных штаммов. Дендрограмма, полученная в результате выполнения кластерного анализа, представлена на рисунке 4.

Рассматривая полученную дендрограмму можно видеть, что штаммы были распределены на две основные группы (кластер 1 и кластер 2), причем в первый кластер вошли только штаммы дрожжей, изолированные на

винограде сорта Достойный (19 из 28 штаммов). Во вторую группу вошли девять штаммов, изолированных на винограде сорта Достойный и все штаммы, изолированные на винограде сорта Шардоне, которые в свою очередь были объединены в субкластеры.

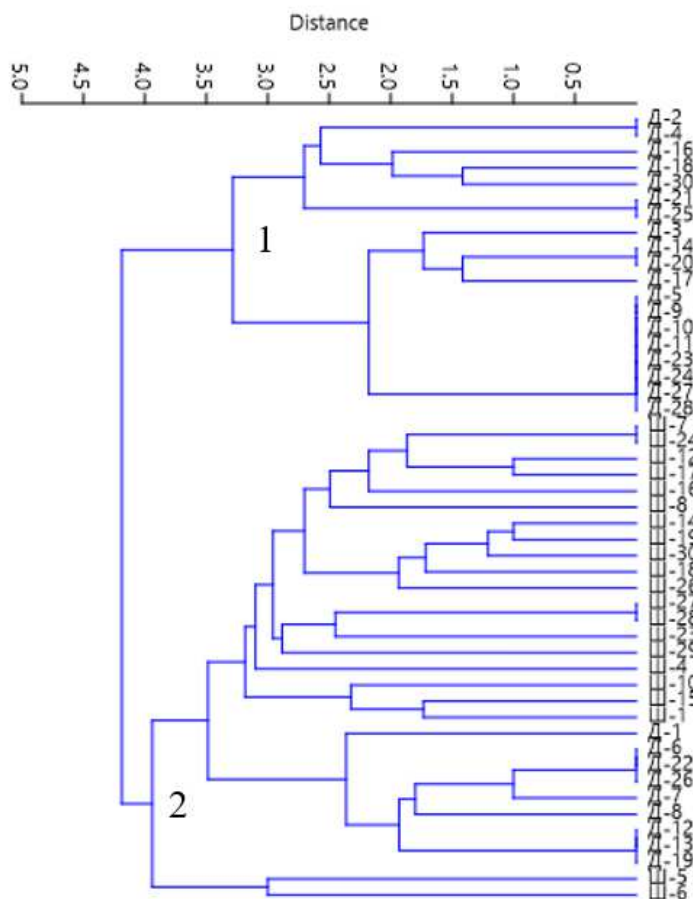


Рис. 4. UPGMA-дендрограмма, характеризующая генетические взаимосвязи штаммов на основе интердельта генотипирования

Данные, полученные в результате исследования, позволяют сделать предварительное заключение о генетической специфичности популяций автохтонных дрожжей, находящихся на поверхности винограда белых и красных сортов. Для подтверждения данной гипотезы необходимо расширение спектра сортов винограда, использованных при выделении автохтонных штаммов *S. cerevisiae* с поверхности ягод. Кроме того, полученные результаты подтвердили, что для интердельта областей генома автохтонных дрожжей характерен достаточно высокий уровень полиморфизма, позволяющий проводить предварительное типирование различных штам-

мов, изолированных с виноградников. Полученные в ходе интердельта анализа данные будут использованы в работе по изучению генетического разнообразия местных популяций дрожжей, а также учтены при отборе штаммов для дальнейшей оценки перспективности их использования в винодельческой практике.

Литература

1. Capozzi V., Garofalo C., Chiriatti M.A. et al. Microbial terroir and food innovation: The case of yeast biodiversity in wine // *Microbiol. Res.* 2015. № 181. P. 75-83. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.10.005>
2. Tristezza M., Gerardi C., Logrieco A., Grieco F. An optimized protocol for the production of interdelta markers in *Saccharomyces cerevisiae* by using capillary electrophoresis // *Journal of Microbiological Methods.* 2009. № 78(3). P. 286-291. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.06.012>.
3. López V., Fernández-Espinar M.T., Barrio E. et al. A new PCR-based method for monitoring inoculated wine fermentations // *Int. J. Food Microbiol.* 2003. №81 (1). P. 63-71. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00194-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00194-0)
4. Gallego F.J., Perez M.A., Martinez I., Hidalgo P. Microsatellites obtained from database sequences are useful to characterize *Saccharomyces cerevisiae* strains // *American Journal of Enology and Viticulture.* 1998. № 49. P. 350-351.
5. Muñoz R., Gómez A., Robles V. Rodríguez P. et al. Multilocus sequence typing of oenological *Saccharomyces cerevisiae* strains // *Food Microbiology.* 2009. №26. P. 841-846. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.05.009>
5. Muñoz R., Gómez A., Robles V. Rodríguez P. et al. Multilocus sequence typing of oenological *Saccharomyces cerevisiae* strains // *Food Microbiology.* 2009. №26. P.841-846. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.05.009>
6. Ness F., Lavalley F., Dubourdieu D. et al Identification of yeast strains using the polymerase chain reaction // *J. Sci. Food Agric.* 1993. № 63. P. 89-94. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740620113>
7. Krastanova O., Hadzhitodorov M., Pesheva M. Ty Elements of the Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* // *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* 2005. № 19. P. 19-26. DOI: 10.1080/13102818.2005.10817272.
8. Legras J.-L., Karst F. Optimisation of interdelta analysis for *Saccharomyces cerevisiae* strain characterization // *FEMS Microbiology Letters.* 2003. № 221. P. 249-255. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00205-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00205-2).
9. Lesage P., Todeschini A.L. Happy together: the life and times of Ty retrotransposons and their hosts // *Cytogenet Genome Res.* 2005. № 110. P. 70-90. <https://doi.org/10.1159/000084940>
10. Schuller D., Valero E., Dequin S., Casal M. Survey of molecular methods for the typing of wine yeast strains // *FEMS Microbiol. Lett.* 2004. № 231. P. 19–26. 10.1016/S0378-1097(03)00928-5
11. Le Jeune C., Erny C., Demuyter C., Lollier M. Evolution of the population of *Saccharomyces cerevisiae* from grape to wine in a spontaneous fermentation // *Food Microbiology.* №. 2006. P.709-716. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.02.007>.
12. Xufre A., Albergaria H., Gírio F., Spencer-Martins I. Use of interdelta polymorphisms of *Saccharomyces cerevisiae* strains to monitor population evolution during wine fermentation // *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.* 2011. № 38. P. 127-132. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0837-z>

13. Capece A., Romaniello R., Siesto G., Romano P. Diversity of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts associated to spontaneously fermenting grapes from an Italian «heroic vine-growing area» // *Food Microbiology*. 2012. №31. P. 159-166. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.03.010>
14. Chen Y, Jiang J, Song Y, Zang Xn et al. Yeast diversity during spontaneous fermentations and oenological characterisation of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* for Potential as Wine starter cultures // *Microorganisms*. 2022. № 10 (7). P. 1455. doi: 10.3390/microorganisms10071455.
15. Chalvantzi I., Banilas G., Tassou C., Nisiotou A. Patterns of genetic diversity and the invasion of commercial starters in *Saccharomyces cerevisiae* vineyard populations of Santorini island // *Foods*. 2020. №. 5. – P. 561.
16. El Dana F, Hayar S, Colosio M-C. Selection of three indigenous Lebanese yeast *Saccharomyces cerevisiae* with physiological traits from grape varieties in western Semi-Desert and Pedoclimatic Conditions in the Bekaa Valley // *Fermentation*. 2021. №7(4) P. 280. <https://doi.org/10.3390/fermentation7040280>
17. Супрун И. И., Токмаков С.В., Агеева Н.М., Прах А.В. Апробация метода генотипирования штаммов винных дрожжей рода *Saccharomyces* на основе анализа геномных участков Inter-delta // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2015. № 112. С. 484-494.
18. Супрун И.И., Лободина Е.В., Агеева Н.М., Аль-Накиб Е.А. Создание коллекции автохтонных штаммов винных дрожжей [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2021. № 71(5). С. 326-341. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/21/05/25.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2021-5-71-326-341 (дата обращения: 24.08.2022).
19. Granchi L., Bosco M., Messini A., Vincenzini M. Rapid detection and quantification of yeast species during spontaneous wine fermentation by PCR-RFLP analysis of the rDNA ITS region // *Journal of Applied Microbiology*. 1999. № 87. P. 949-956. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1999.00600.x.
20. Šuranská H., Vránová D., Omelková J., Vadkertiová R. Monitoring of yeast population isolated during spontaneous fermentation of Moravian wine // *Chemical Papers*. 2012. №66 (9). P. 861-868. DOI: 10.2478/s11696-012-0198-3

References

1. Capozzi V., Garofalo C., Chiriatti M.A. et al. Microbial terroir and food innovation: The case of yeast biodiversity in wine // *Microbiol. Res*. 2015. № 181. P. 75-83. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.10.005>
2. Tristezza M., Gerardi C., Logrieco A., Grieco F. An optimized protocol for the production of interdelta markers in *Saccharomyces cerevisiae* by using capillary electrophoresis // *Journal of Microbiological Methods*. 2009. № 78(3). P. 286-291. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.06.012>.
3. López V., Fernández-Espinar M.T., Barrio E. et al. A new PCR-based method for monitoring inoculated wine fermentations // *Int. J. Food Microbiol*. 2003. №81 (1). P. 63-71. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00194-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00194-0)
4. Gallego F.J., Perez M.A., Martinez I., Hidalgo P. Microsatellites obtained from database sequences are useful to characterize *Saccharomyces cerevisiae* strains // *American Journal of Enology and Viticulture*. 1998. № 49. P. 350-351.
5. Muñoz R., Gómez A., Robles V. Rodríguez P. et al. Multilocus sequence typing of oenological *Saccharomyces cerevisiae* strains // *Food Microbiology*. 2009. №26. P.841-846. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.05.009>
6. Ness F., Lavalley F., Dubourdieu D. et al Identification of yeast strains using the polymerase chain reaction // *J. Sci. Food Agric*. 1993. № 63. P. 89-94. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740620113>

7. Krastanova O., Hadzhitodorov M., Pesheva M. Ty Elements of the Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* // Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2005. № 19. P. 19-26. DOI: 10.1080/13102818.2005.10817272.
8. Legras J.-L., Karst F. Optimisation of interdelta analysis for *Saccharomyces cerevisiae* strain characterization // FEMS Microbiology Letters. 2003. № 221. P. 249-255. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00205-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00205-2).
9. Lesage P., Todeschini A.L. Happy together: the life and times of Ty retrotransposons and their hosts // Cytogenet Genome Res. 2005. № 110. P. 70-90. <https://doi.org/10.1159/000084940>
10. Schuller D., Valero E., Dequin S., Casal M. Survey of molecular methods for the typing of wine yeast strains // FEMS Microbiol. Lett. 2004. № 231. P. 19–26. 10.1016/S0378-1097(03)00928-5
11. Le Jeune C., Erny C., Demuyter C., Lollier M. Evolution of the population of *Saccharomyces cerevisiae* from grape to wine in a spontaneous fermentation // Food Microbiology. №. 2006. P.709-716. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.02.007>.
12. Xufre A., Albergaria H., Gírio F., Spencer-Martins I. Use of interdelta polymorphisms of *Saccharomyces cerevisiae* strains to monitor population evolution during wine fermentation // Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2011. № 38. P. 127-132. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0837-z>
13. Capece A., Romaniello R., Siesto G., Romano P. Diversity of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts associated to spontaneously fermenting grapes from an Italian «heroic vinegrowing are» // Food Microbiology. 2012. №31. P. 159-166. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.03.010>
14. Chen Y, Jiang J, Song Y, Zang Xn et al. Yeast diversity during spontaneous fermentations and oenological characterisation of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* for Potential as Wine starter cultures // Microorganisms. 2022. № 10 (7). P. 1455. doi: 10.3390/microorganisms10071455.
15. Chalvantzi I., Banilas G., Tassou C., Nisiotou A. Patterns of genetic diversity and the invasion of commercial starters in *Saccharomyces cerevisiae* vineyard populations of Santorini island // Foods. 2020. №. 5. – P. 561.
16. El Dana F, Hayar S, Colosio M-C. Selection of three indigenous Lebanese yeast *Saccharomyces cerevisiae* with physiological traits from grape varieties in western Semi-Desert and Pedoclimatic Conditions in the Bekaa Valley // Fermentation. 2021. №7(4) P. 280. <https://doi.org/10.3390/fermentation7040280>
17. Suprun I. I., Tokmakov S.V., Ageeva N.M, Prah A.V. Aprobaciya metoda genotipirovaniya shtammov vinnyh drozhzhej roda *Saccharomyces* na osnove analiza genomnyh uchastkov Inter-delta // Politematicheskij setevoy elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2015. №. 112. S. 484-494.
18. Suprun I.I., Lobodina E.V., Ageeva N.M., Al'-Nakib E.A. Sozdanie kolleksii avtohtonnyh shtammov vinnyh drozhzhej [Elektronnyj resurs] // Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii. 2021. № 71(5). S. 326-341. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/21/05/25.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2021-5-71-326-341 (data obrashcheniya: 24.08.2022).
19. Granchi L., Bosco M., Messini A., Vincenzini M. Rapid detection and quantification of yeast species during spontaneous wine fermentation by PCR-RFLP analysis of the rDNA ITS region // Journal of Applied Microbiology. 1999. № 87. P. 949-956. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1999.00600.x.
20. Šuranská H., Vránová D., Omelková J., Vadkertiová R. Monitoring of yeast population isolated during spontaneous fermentation of Moravian wine // Chemical Papers. 2012. №66 (9). P. 861-868. DOI: 10.2478/s11696-012-0198-3