



TDK dolgozat

Az aszúsodás baktériumközösségének molekuláris
biológiai vizsgálata

Készítette: Tikovits Gitta

Osztatlan tanárképzés (biológia-angol), Élelmiszertudományi és Borászati
Tudásközpont

BMK hallgató

Konzulens: Dr. Hegyi Ádám István

tudományos munkatárs, Élelmiszertudományi és Borászati Tudásközpont

Eger

2024

1. BEVEZETÉS	3
2. CÉLKITŰZÉS.....	5
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
3.1 A <i>Botrytis cinerea</i> , mint növénypatogén gomba	6
3.2 Mi a szürkerothadás?	6
3.3 Mi a nemesrothadás?.....	7
3.4 A szőlőbogyó mikrobiális közössége	7
3.4.1 Szőlőbogyón előforduló mikroorganizmusok, fonalasszombák, élesztőgombák, baktériumok.....	8
3.4.2 A mikrobiális közösségeket vizsgáló molekuláris módszerek: klasszikus mikrobiológia, szelektív táptalajok, DNS alapján, metabarcoding, ASV-konceptió	10
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	11
4.1 Mintagyűjtés.....	11
4.2 DNS kivonás.....	11
4.3 Szekvenálás	12
4.4 Adatok feldolgozása	12
4.4.1 Adatok elemzése	13
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKESELÉSÜK.....	14
5.1 A különböző szőlőbogyó típusok baktérium közössége	14
5.2 NMDS	16

5. 3 A baktérium közösségek előfordulása a különböző dűlőkben és különböző bogyótípusokon	17
5.3.1 A dűlők baktériumközössége.....	17
5.3.2 Egyes bogyótípusok baktériumközössége.....	20
5.4 A talált baktériumnemzetségek lehetséges hatása	24
6. ÖSSZEFOGLALÁS	29
IRODALOMJEGYZÉK	31
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	41

1. BEVEZETÉS

A *Botrytis cinerea* egy világszerte jól ismert patogén gombafaj, amely több mint 1200 gazdanövényt képes fertőzni, ezzel jelentős mezőgazdasági károkat okozva (Fillinger, et al., 2016). Szőlő (*Vitis vinifera*) esetében azonban az általánosan elterjedt szürkerothadás mellett a *B. cinerea* egy ritkább, ám annál jelentősebb rothadástípust indíthat el, a nemesrothadást. E folyamat során a szőlőbogyó vízvesztés következtében aszúbogyóvá töpped, amiből később magas minőségű aszúbor készül (Magyar, 2011). Az aszúszem keletkezéséhez számos környezeti faktornak teljesülnie kell, és világviszonylatban kevés szőlőtermő terület felel meg ezeknek. Ezek közül a legismertebbek a franciaországi Sauternes-, a németországi Rajna-völgye- és Magyarországon a Tokaj borvidék területei. Kiemelkedő jelentőségű a Tokaj borvidék, ugyanis a Tokaji Aszú volt az első aszúbor, amit szándékosan nemesrothadásos szőlőből készítettek (Szabó, Török, 1867). Magyar (2011), az aszúborokról szóló összefoglaló tanulmánya alapján a nemesrothadás folyamata során a *Botrytis cinerea* gombafaj ahelyett, hogy a szőlőbogyó nekrotikus elhalását okozná, összezsugorítja a szőlőbogyót és megnöveli a bogyó nedvtartalmának cukor-koncentrációját, ezzel egy extrém ozmotikus környezetet létrehozva a szőlőbogyón belül. Az aszúszemekből további cukor hozzáadása nélkül készítenek első osztályú édes borokat, amely egyedülálló módszer az édesbor-készítés szempontjából a borászatban. Az aszúsodás kutatása során számos kísérlet volt a szürkerothadás és a nemesrothadás genetikai elkülönítésére. Ezek bebizonyították, hogy mindkét folyamat okozója ugyanazon gombafaj hasonló törzsösszetételű populációja (*Botrytis cinerea*), tehát a két rothadástípusra más magyarázatot kell keresni (Fillinger, et al., 2016). A *B. cinerea* általi rothadások alakulására számos faktor hathat, mint az időjárás, a termőterület klimatikus és geológiai adottságai, valamint a szőlőbogyó mikrobiomja (Hegyi-Kaló, et al., 2020). Ez utóbbi egyéb fonalgombákat, élesztőgombákat és baktériumokat foglal magába. Az újgenerációs szekvenálást használó kutatások rávilágítottak, hogy az aszúborok mikrobiális diverzitása messze nagyobb, mint azt korábban gondolták (Hegyi, et al., 2022, Otto, et al., 2022). A kutatásom során a baktériumközösség összetételét vizsgáltam egészséges (H), szürkerothadt (GR) és nemesrothadt (NR) bogyókon, valamint összehasonlítottam az egyes dűlők (Betsek, Szent Tamás, Úrágya) baktériumközösségeit is, annak érdekében, hogy megvizsgáljam van-e összefüggés a termőterület (terroir) illetve az egyes bogyótípusok és a szőlőbogyó baktériumközössége összetétele között. Az vizsgálatainkat mintagyűjtéssel kezdtem az említett dűlőkön, majd DNS kivonást végeztem. Ezt követte a szekvenálás amely 16S rRNS-t kódoló

DNS régió ampikon szekvenálása volt Illumina platformon. Az így kapott ampikon szekvencia variánsokat (ASV) R programkörnyezetben adott szempontok szerint szűrtem, majd ökológiai statisztikai elemzéseknek vetettem alá. A baktérium ASV-ket hozzárendeltem egy adatbázis segítségével baktériumnemzetségekhez, majd utánanéztem egyes baktérium nemzetségek hatásának és borkészítésben betöltött lehetséges szerepének. Az eredmények azt mutatják, hogy a terroir jelentős mértékben meghatározza a baktériumközösség összetételét a szőlőbogyó esetében. A bogyótípusok baktériumközösségei között is eltéréseket találtunk a baktérium ASV-ék abundanciájában és gyakoriságában is.

2. CÉLKITŰZÉS

Kutatási projektünk fókuszában a botrytizáció során jelen lévő baktériumfajok állnak, és ezek szerepe a nemesrothadás kialakulásában.

A nemesrothadás kialakulása olyan specifikus környezeti feltételeken múlik, mint a hőmérséklet, a napsütéses órák száma, az esőzések és a légmozgás. Ezek a külső hatások meghatározzák a szőlőbogyón található mikrobióta alakulását. Ennél fogva logikus feltételezés összefüggést keresni a botritizáció és a szőlőbogyó mikroorganizmusai között. A kutatás elsődleges célja a szőlőbogyó felületén és belsejében található baktériumok (ASV-ék) mennyiségének (ASV-ék száma) és minőségének (lehetséges élettani funkciók) meghatározása egészséges (H), szürkerothadt (GR) és nemesrothadt (NR) bogyók esetében, valamint a három különféle dűlő [Betsek (B), Szent Tamás (S), Úrágya (U)] egészséges, szürkerothadt és nemesrothadt szőlőbogyóinak összehasonlítása, eltérések és hasonlóságok keresése a baktérium-mennyiségben és baktérium-összetételben. A különböző fázisú szőlőbogyók baktériumközösségének kutatása fontos lehet *Botrytis cinerea* elleni biokontroll módszerek fejlesztésében, a nemesrothadás háttérfolyamatainak feltérképezésében, ennél fogva a borkészítés mikrobiológiai aspektusának további megismerésében, és a talált baktérium nemzetségekről való tájékozottság elmélyítésében.

A kutatás során cél volt, az ASV-ék számának meghatározása egyes bogyótípusokon (H, GR, NR) és ezen ASV-ék minőségi elemzése. Ezzel azt vizsgáltam van-e összefüggés a szőlőbogyó állapota és a szőlőbogyó baktériumközösségének abundanciája között. Feltételezhető volt, hogy további összefüggés van a baktériumközösség fajgazdagsága (richness/alfa-diverzitás) és a bogyó típusa között.

Fontos ökológiai kérdés, hogy a termőterület (terroir) hatással van-e a szőlőbogyó mikrobiomjára és van-e kölcsönhatás az együtt előforduló baktériumnemzetségek között. A baktériumközösség minőségi és mennyiségi tulajdonságaiban elemeztem az eltéréseket a termőterület szempontjából is.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1 A *Botrytis cinerea*, mint növénypatogén gomba

A *Botrytis cinerea* egy nekrotóf életmódú, generalista ascomycota gombafaj. A mezőgazdaságban leginkább a szürkerothadást okozó mikroorganizmusként tartják számon, amely jelenléte számos gazdanövényen (>1200) termésvesztéshez vezet (Fillinger, et al., 2016). Korábban feltételezték, hogy a gomba patogén hatása az általa termelt sejtfalbontó enzimekben és nem-szelektív toxinokban rejlik, azonban ezek a feltételezések a kutatások előrehaladásával nem bizonyultak elégségesnek a patogén hatás magyarázatára (Bi et al. 2022). A fertőzés hátterében sokféle fertőzési mechanizmus áll, amelyek együttesen járulnak hozzá a szürkerothadás végbemeneteléséhez (Bi et al. 2022). Habár rezisztencia nem érhető el a gazdák esetében, már vannak módszerek a fertőzés lelassítására (Elad et al. 2016).

A szőlő (*Vitis vinifera*) esetében azonban a *Botrytis cinerea* kétféle rothadási folyamatot indukálhat. Az egyik, a már említett szürkerothadás, amely jelentős mértékű termésvesztéshez vezet, valamint ritkább esetben, bizonyos speciális környezeti tényezők mellett egy másfajta rothadás zajlik le *B. cinerea* fertőzés következtében: a nemesrothadás (Magyar, 2011).

3.2 Mi a szürkerothadás?

A szürkerothadás során a bogyó felületére kerülve, a *Botrytis cinerea* csak korlátozottan képes az ép bogyóhéj elemésztésére, ezért a bogyó belsejébe a sztómákon-, mikrorepedéseken- és sérüléseken keresztül hatol be. Miután megtörtént a gazdanövényrel való kontaktus kialakítása, három jól elkülönülő fázist figyelhető meg. Egy korai szakasz, amely alatt helyenkénti fertőzési gócok alakulnak ki, amik nem terjednek. Ezt követi a köztes fázis, mely során a mikrosérülések egyetlen lokális nekrotikus folttá alakulnak. A harmadik szakaszban a sérülés terjedni kezd és kialakulnak a hifák (Bi et al. 2022). A korai szakasz során a gomba növényi sejtfalbontó enzimek és sejthalált indukáló fehérjék termelésével a nekrosis gyors elterjedését teszi lehetővé (Bi et al. 2022). Mindamellet, hogy a gomba a növény sejtjeinek pusztulását okozza, a növény antimikrobiális anyagai következtében a gombasejtek is pusztulnak. A túlélés érdekében a gomba antiapoptotikus anyagcsere útvonalakat használ. A sejtfal áttörését követően a gomba kontaktusba kerül a növény védelmi rendszere által termelt védelmi molekulákkal, amikkel szemben a *B. cinerea* fitotoxikus metabolitokat, virulencia faktorokat és sejtfalbontó enzimeket

termel (Aleu & Duran-Patron et al. 2002). Számos gomba által termelt fehérje és metabolit sejthalált indukál, de bizonyított, hogy ugyanezek egyes sejteknél programozott sejthalál elindításához is hozzájárulhatnak (Nakajima & Akutsu, 2014). A gomba által termelt toxinoknál fontos megemlíteni a botcinolide-ot és a botrydial-t. Nakajima és Akutsu (2014) tanulmánya szerint ez a fertőzött szövetekben termelődik (Deighton et al. 2001) ahol klorózt és a sejtek összeomlását indítja el (Colmenares et al. 2002).

3.3 Mi a nemesrothadás?

Magyar és Soós (2016) három fő kritériumot fogalmaztak meg a nemesrothadás kialakulásához: 1) Megfelelő klíma és mikroklíma, 2) megfelelő szőlőtermés-alapanyag 3) a szőlőbogyó teljes túléltsége a *Botrytis cinerea* fertőzés idején (Magyar & Soós, 2016). Nemesrothadás esetében a gomba bogyón való megtelepedése után, a növekedése az epidermisz külső rétegeire korlátozódik. Elemésztve a bogyóhéjat, a gomba által kémiai anyagok kinyerése történik a bogyóból, és anyagcseretermékek kibocsátása a nedvtartalomba. Az áteresztővé vált bogyóhéj és a napos-szeles időjárás együttesen lehetővé teszi a víz elpárolgását a bogyóból, ami a bogyó összezsugorodását- és a nedvtartalom ozmotikus koncentrációjának többszörösére növekedését eredményezi. Ezt fokozza, hogy a túlrejt szőlő elfásodott fűrtkocsánya már nem képes a vízzárlásra, a bogyó a dehidratáltság miatt töppedni kezd. Az aszúbogyó cukortartalma a Sauternes borok esetében a 350 g/l éri el, de ha az összezsugorodás folyamata intenzív (mint például Tokajban), akár a ~700 g/l-t is elérheti. (Magyar & Soós, 2016). A *Botrytis* számos hidroláz és oxidáz aktivitású enzimet termel, amelyek képesek átalakítani a szőlő szöveteinek és a levének összetevőit (Magyar & Soós, 2016). A glükóz további oxidációja glicerinné képződéshez vezet, amely hozzájárul a bogyók dehidratációjához (Magyar & Soós, 2016). A nemesrothadt bogyó nitrogénvegyületeiben is történnek változások: az extracelluláris gombák által-termelt enzimek megnövelik a szőlőbogyó nedvtartalmának fehérje-koncentrációját (Magyar & Soós, 2016).

3.4 A szőlőbogyó mikrobiális közössége

A mikrobiális ökológia tudományának fókuszja az ökoszisztémák- és azok kölcsönhatása a mikrobákkal, mikrobiális vektorokkal (Boddy and Wimpenny, 1992). A szőlőbogyó komplex mikrobiális ökológiai életközösséggel jellemezhető. Ebbe az életközösségbe tartoznak fonalgombák, élesztőgombák valamint baktériumok. Mindezen mikroorganizmusok különféle hatással vannak a borkészítés folyamatára (Barata et al. 2012). Néhány faj a

borkészítés során elpusztul úgy, mint a parazita gombák és környezeti baktériumok, más fajok viszont képesek túlélni a borkészítés lépéseit, ezzel bekerülve a borászati termékbe. Ezt összefoglaló néven Wine Microbial Consortium (WMC)-nak nevezzük, amelybe azon mikrobák tartoznak, amelyek valamilyen hatással vannak a borminőségre (Barata et al. 2012). A szőlő egészségi állapota van az egyik legnagyobb hatással a mikrobiális ökológiai összetételre. Ez növekedést okozhat a szőlőbogyón jelen levő mikroorganizmusok számában, illetve diverzitásában (Barata et al. 2012.). Ennél fogva a biotikus (pl: rovarok, gombák, baktériumok, vírusok), abiotikus (pl: időjárás) és szőlőtermesztési (pl: fungicidek) tényezők hatása a szőlő mikrobiomjára ezek elsődleges károsító hatásától függ (Barata et al. 2012.).

3.4.1 Szőlőbogyón előforduló mikroorganizmusok, fonalagombák, élesztőgombák, baktériumok

A szőlőhéj sérülése során a bogyó felületén található gombáknak és baktériumok számára elérhetővé válik a magas cukortartalmú szőlőlé. Ez kedvez fermentatív életmódú *ascomycota* gombáknak, mint például a *Pichia spp* és a *Zygoascus hellenicus*, de borminőséget negatívan befolyásoló élesztőgombáknak is (pl: *Zygosaccharomyces spp.* és *Torulaspora spp.*), és néhány ecetsavbaktérium nemzetségnek is (*Gluconobacter* és *Acetobacter*) (Barata et al. 2012). Az élesztőgombákkal ellentétben a szőlőbogyó bakteriális életközössége kevésbé kutatott terület (Magyar & Soós, 2016). A szőlőnövény és a szőlőtermés számos betegségnek kitett a hosszú vegetációs periódus során (kb. 100 nap). A legismertebbek ezek közül a *Plasmopara viticola* okozta peronoszpóra, a lisztharmat (*Erysiphe necator*) és a szürkerothadás (*Botrytis cinerea*), ezek elterjedése növényvédőszeres használatával elkerülhető (Barata et al. 2012.). A szőlőn szaprofita penészgombák is előfordulhatnak, amikhez rothadások és mikotoxin termelés köthető, mint a *Cladosporium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* (Barata et al. 2012). A baktériumfajokat nézve az ecetsavbaktériumok (pl: *Gluconobacter*, *Acetobacter*) elszaporodása veszélyt jelenthet a szőlőre (savanyú rothadás) és a borminőségre is, de ezek kontrollálhatóak a borkészítésben (Barata et al. 2012). A tejsavbaktériumok (pl: *Oenococcus o.*, *Lactobacillus spp.* és *Pediococcus spp.*) fiziológiai sokszínűsége miatt, Barata és munkatársai (2012) tanulmányukban leírták, hogy nem sikerült bizonyítható következtetéseket levonni a borkészítésben betöltött szerepükről. Jelenlétük ronthat a borminőségen, főként magas pH-val rendelkező borok esetében, félresikerült ízt okozhatnak vagy biogén aminok termelésére is képesek (Arena et al. 2011, Capozzi et al. 2011, Pan et al. 2011). Barata és társai (2012) kutatásában számos baktérium nemzetséget találtak a szőlőbogyón, amelyek ártalmatlannak,

kommenzális fajoknak bizonyultak. Ezek az *Acinetobacter spp.*, *Curtobacterium spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Serratia spp.*, *Enterobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, *Bacillus spp.*, és *Staphylococcus spp.* voltak. Általánosan elterjedt baktériumfajok is megtalálhatóak a szőlőbogyón szennyeződés hatására a szőlő környezetéből (Barata et al. 2012). A *Bacillus thuringiensis*, ami biokontroll ágensként használatos, szüretkor nagy mennyiségben előfordulhat (Fleet, 2003). A *Drosophila* rovar által terjesztett élesztőgombák és ecetsavbaktériumok indukálhatják a savanyú rothadást (Barata et al. 2012). A *Lactiplantibacillus plantarum* tejsavbaktériumot, a *Drosophila simulans* szervrendszeréből sikeresen kimutattak egy borászatban gyűjtött mintából (Groenewald et al., 2006). Madarak csőréről és emésztőrendszeréből izoláltak szőlőt szennyező mikroorganizmusokat, mint a *Hanseniaspora uvarum* (Francesca et al., 2010). A szőlőtermés aszúsodása során egyes szaprofita gombák is megjelentek, ilyenek a *Penicillium* és *Aspergillus* fajok (Magyar, 2011). A nemesrothadt szőlő élesztőközösségét tekintve a *Starmerella bacillaris* (korábban *Candida zemplinina*) az egyik legérdekesebb faj, amelyet a Tokaji borvidéken azonosítottak, abundanciája a szüret utáni tárolás alatt különösen emelkedik (Magyar & Soós, 2016). A *Starmerella bacillaris* a fermentáció alatt fontos szerepet tölthet be, és figyelemreméltó tulajdonságokkal rendelkezik, mint a cukor tolerancia, jó glicerintermelő képesség, közepes- vagy alacsony ecetsavtermelés és sajátos aroma profil (Magyar & Soós, 2016). A aszús szőlőn továbbá megtalálhatók a *Zygosaccharomyces bailii*, *Hanseniaspora species*, *Metschnikowia pulcherrima*, és a *Candida lactis-condensi*, *Issatchenkia spp.* vagy *Kluyveromyces dobzhanskii* élesztőgombák, amik szintén cukor-toleráns taxonok és hatnak a fermentációra (Magyar & Soós, 2016). Az élesztőgombákkal szemben, a nemesrothadt szőlőn megtalálható baktériumokról sokkal kevesebb adat áll a kutatók rendelkezésére. Botritizáció során bizonyos esetekben az ecetsavbaktériumok domináns szerepet játszanak a szőlőn, amik ugyan elsősorban a negatív, ecetesedést okozó hatásukról ismertek, de az ecetsav kis mennyiségben pozitívan hathat a bor sav-cukor egyensúlyára és bizonyos borászati termékek jellemző aromájának kialakulására (Sponholz, 1993). Olaszországi, passito borok készítésekor felhasznált dehidratált szőlőbogyók baktériumközösségének vizsgálatakor a *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Curtobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* és *Staphylococcus* taxonok bizonyultak dominánsnak (Lorenzini & Zapparoli, 2020). Különféle baktériumok egyes törzsei (pl: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Streptomyces* és *Gluconobacter*) antagonista hatásúak lehetnek szőlőpatogénekkal szemben, ezek több tanulmányban leírt módon azonosíthatók voltak a szőlőkön a szüretelést követően. (Lorenzini & Zapparoli, 2020).

3.4.2 A mikrobiális közösségeket vizsgáló molekuláris módszerek: klasszikus mikrobiológia, szelektív táptalajok, DNS alapján, metabarcoding, ASV-konceptió

A mikrobiális közösségek vizsgálatára klasszikus és modern módszerek egyaránt rendelkezésre állnak. A klasszikus módszerek általában tenyésztéses úton izolálják a különböző gombákat vagy baktériumokat, amelyekből aztán morfológiai azonosítással vagy taxonómiai meghatározást lehetővé tevő lókuszok szekvenálásával lehet következtetni a mikrobaközösség összetételére. Ezek a módszerek ugyan taxonómiailag pontos azonosítást tesznek lehetővé, azonban a nagy számosságú közösségek esetén csak korlátozottan használhatók, illetve a tenyésztéses módszerek a tenyésztethető mikrobákra korlátozódnak (Green és Goldman 2021). Az újgenerációs szekvenáláson alapuló módszerek lehetővé teszik a mikrobaközösség átfogó vizsgálatát, ám ennek a módszernek is vannak korlátai (Lundberg, et al., 2013). Manapság a legelterjedtebb amplikon szekvenáláson alapuló módszer a baktériumközösségek vizsgálatára a 16S rRNS-t kódoló régió PCR reakcióban történő felszaporítása és az amplikon könyvtár Illumina platformon történő szekvenálása (Pichler, et al., 2018). A módszer lényege, hogy a begyűjtött környezeti mintából teljes DNS kivonást végzünk, melyhez manapság számos kivonó kit rendelkezésre áll (Claassen et al., 2013). A kivont DNS-ben található 16S régiót kódoló szakaszt PCR reakcióban felszaporítjuk, amelyhez olyan primer párt alkalmazunk amely ún. barcode-dal jelölt, ez a barcode mintánként eltérő (Caporaso, et al., 2011). Az amplikonokat aztán Illumina platformon szekvenáljuk, majd a kapott szekvencia könyvtárakat a barcode alapján szétválogatjuk mintákra. Ezek aztán szekvencia adatbázisokba rendezhetők, melyeket bioinformatikai módszerekkel feldolgozhatunk és azonosíthatunk. Több tanulmány is született ezekről a módszerekről, a manapság leginkább használatos az ASV módszer, amely a kapott szekvenciákat a különbözőségük alapján szekvencia variánsokba csoportosítja, majd a szekvencia variánsokat mint hipotetikus taxonok kezeli a továbbiakban (Joos, et al., 2020).

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1 Mintagyűjtés

A mintavételhez három különböző dűlőn található szőlőültetvény szolgált. Mindhárom Mád falu határában található: a Betsek (B), a Szent Tamás (S) és az Úrágya (U) dűlők. A mintagyűjtésül szolgáló parcellák, a mádi Szepsy Kft. tulajdonában vannak. E három dűlőt különféle geológiai és klimatikus tulajdonságok jellemzik. A Betsek dűlő a környékbeli első osztályú termőterületek közül is kimagasló minőségűként elismert, a jellemző talajtípus andezit és a törmelékes agyag. A növényvédelem szempontjából a területen nem használtak szerves- vagy műtrágyát az elmúlt 20 évben, Integrated Pest Management (IPM) eljárás alkalmazott a területen, ami kontakt- és szisztémikus hatású növényvédelmi készítményekkel való kezelést jelent. A másik két dűlő talaja és klímája hasonló, ám jellemzően a Tokaji borvidékre mezoszkópikus skálán különbségek találhatók az egyes dűlők talaj összetétele és éghajlati kitettsége szerint. A borvidék domborzati kialakulását meghatározó vulkanikus folyamatok olyan ásványkialakulási mechanizmusokat idéztek elő amely 10 m-es skálán is változatos talajt eredményez, ám a talaj alapvetően borvidéki szinten hasonló, melyet a három kiválasztott dűlő jól reprezentál.

Mindegyik dűlőről háromféle bogyótípust gyűjtöttem: egészséges (H), szürkerothadt (GR) és nemesrothadt (NR) bogyókat furmint fajtájú szőlőkről. A mintagyűjtés 2022 szeptemberében történt, 5 ismétléssel. 50 ml-es steril centrifugacsövekben, a helyszínen folyékony N-nel való fagyasztás után szárazjégen szállítottuk a bogyómintákat. Ezeket, a szállítást követően a feldolgozásig, ultramély fagyasztóban tároltuk.

4.2 DNS kivonás

A mintafeldolgozást a területen szokásos módszertan szerint végeztem (Geiger, et al., 2022). A mintafeldolgozás első lépése a fagyasztott szőlőbogyók steril dörzsmozsárban folyékony nitrogén alatt való porítása volt. Ezt követte a DNS kivonás, ami DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen GmbH., Hilden, Németország) segítségével történt. Ennek lépései: 1) DNS molekulák lízise, kicsapása a mintából 2) Minta centrifugálása a QIAshredder oszlopon keresztül 3) Etanol hozzáadása 4) DNS molekulák adszorpciója a DNeasy membránhoz 5) Öblítés 6) Feloldás. A folyamat végterméke a tiszta DNS, melynek minőségét Nanodrop 2000 (Thermo Fischer

Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) spektrofotométerrel ellenőriztem. A DNS koncentráció akkor volt megfelelő, ha elérte az 50 ng/μl minimum határt.

4.3 Szekvenálás

Esetünkben a kivont DNS szekvenálását egy külső cég végezte, a Eurofins BIOMI Kft., akik újgenerációs DNS amplikon szekvenálást alkalmaztak Illumina Miseq platformon. A DNS mintáink esetében a rRNS 16S régiót kódoló DNS szakasz amplikon szekvenálása történt, 515F–806R primer pár felhasználásával (Caporaso et al., 2011).

4.4 Adatok feldolgozása

A kapott nyers szekvencia adatokat először szűrésnek vettem alá, majd alapvető statisztikai elemzéseket végeztem rajtuk. R statisztikai környezetben, R Studio felhasználói felületen tettem meg (R version 4.3.3, R Studio „Angel Food Cake” 2024.02.29). Az elemzés Bioconductor (1.30.22) csomagon keresztül a Dada2 (1.16) amplikon szekvencia készítő programmal történt (Callahan et al. 2016). A kiindulási adataim párosított végű, fasta fájlakká alakított Illumina szekvenciák voltak, amikről a nem-biológiai szekvenciák (adapterek és primerek) a demultiplexálás során eltávolításra kerültek. A szűrés során ellenőriztem a szekvenciaadatok minőségét, trimmelést végeztem az adatokon, az alacsonyabb minőségű olvasatok végeinek eltávolításához mind a forward (F) és reverse (R) read-ek esetében. Ezt követte a hiba ráták megalkotása és a denoising, az alacsony minőségű/hibás adatok kiszűréséhez (F és R szekvenciáknál egyaránt), majd a 'Merging' során a forward és reverse szekvenciák párosítását végeztem el, ahol a követelmény volt, hogy a read-ek legalább 12 bázispárja összeilleszkedjen, és ebben a régióban a szekvenciák megegyezzenek. Azokat a párokat, amelyek ezeknek a követelményeknek nem feleltek meg, eltávolítottam. Az így kapott amplikon szekvencia variánsokat táblázatba rendeztem, és eltávolítottam a kimérákat a szekvenciákról. Az adatok szűrésénél az utolsó lépés a szűrt adatok megjelenítése, így megkaptam azokat az ASV-eket, amelyek minden szűrési szempontnak megfeleltek (280 db ASV). A kapott 16S rRNS ASV-eket a Silva (SILVA verzió 138.1, Quast et al. 2012) bakteriális taxonómiai adatbázis segítségével BLAST-oltam, így megkaptam, hogy az adott szekvencia variánsok mely baktérium nemzetséghez tartoznak. Nagyon fontos kiemelni a szűrési lépésnél, hogy a minták növényi minták így nagyszámú mitokondriumot és kloroplasztiszt tartalmaznak, amelyek a 16S amplikon szekvenálás során mint „szennyezők” kerülnek kiértékelésre. Az adataink közül ezért taxonómiai azonosítást követően eltávolítottuk a *Chloroplast* osztályba és

Rickettsiales rendbe sorolt ASV-ket. Technikai szűrést is végeztem, azaz a 10-nél kisebb abundanciájú ASV-ket szintén elimináltam (Joos, et al. 2021).

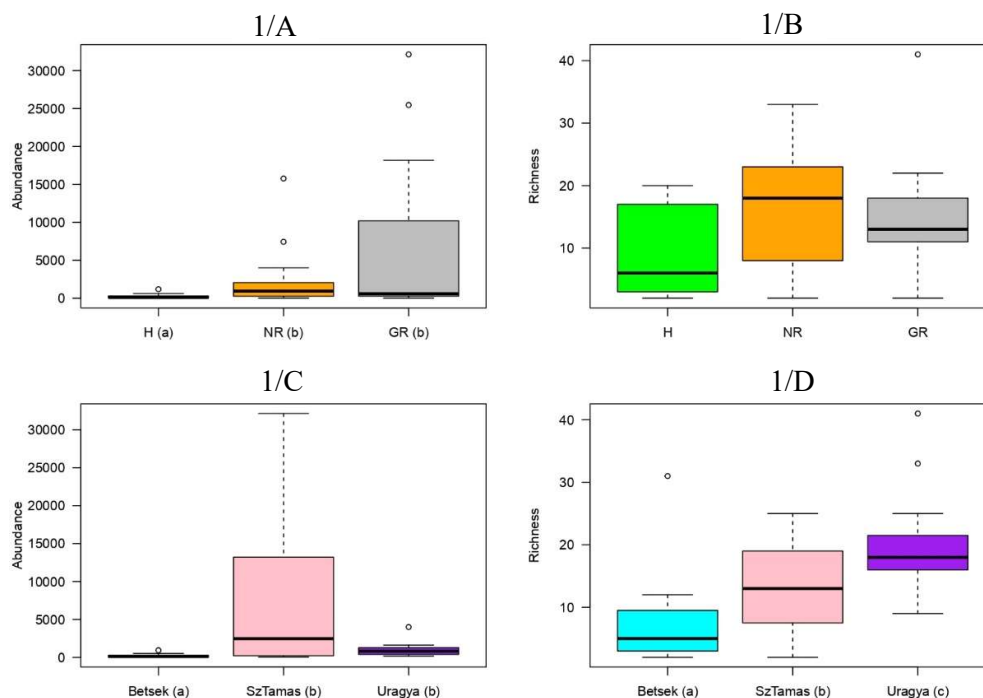
4.4.1 Adatok elemzése

Az adatok elemzésénél elsősorban a kapott ASV-ék abundanciáját (gyakoriság) és richness-ét (fajgazdagság, alfa-diverzitás) vizsgáltam a különböző bogyótípusok és mintagyűjtési helyek szempontjából. Az elemzéseket a szokásos R-programcsomagokkal végeztem (vegan, ggplot, Geiger, et al., 2022) használtam. Később irodalmi kutatást végeztem az adott baktérium nemzetségek lehetséges szerepének a szőlőbogyó baktériumközösségében. A bogyótípusok és a dűlők abundancia és richness elemzéséhez Bray-Curtis távolságmetrikán alapuló NMDS ordinációs módszert használtam, majd az változók közötti eltéréseket PerMANOVA permutációs többváltozós varianciaanalízissel emeltem ki.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1 A különböző szőlőbogyó típusok baktérium közössége

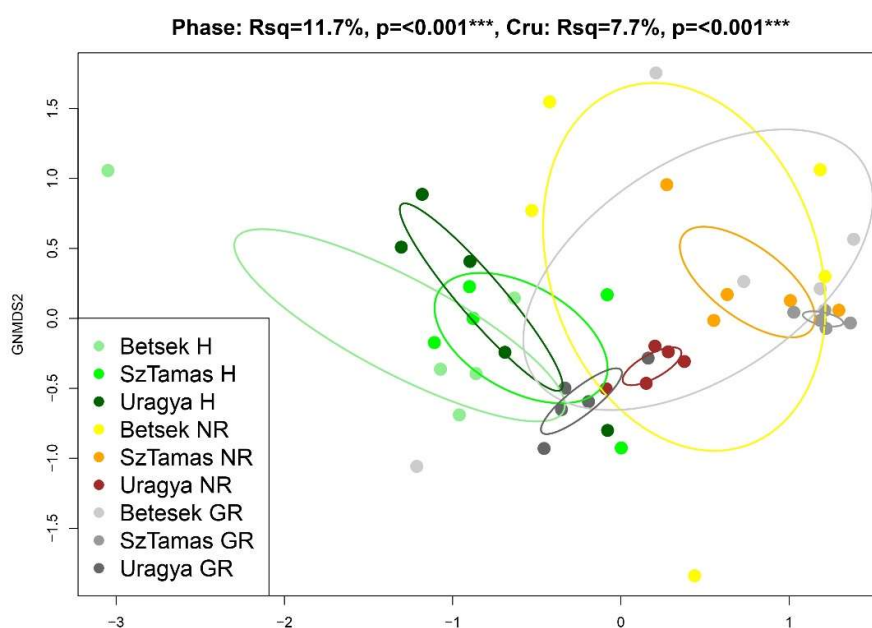
A DNS-metabarkódolás során 1084 ASV-t kaptam eredményül, melyek száma a kloroplasztis, mitokondrium és technikai szűrés után 280-ra csökkent, ezek közül a silva adabázis 130 egyedi baktériumnemzetséget azonosított. Az első ábrán (1. ábra) a háromféle bogyótípus és a háromféle dűlő közötti, a baktériumközösségi adatok alapján meghatározott mennyiségi különbségek látszanak. Az ábrán a Wilcoxon-teszt alapján kapott p-érték szerinti szignifikáns különbséget a minták közt, az „(a)”, „(b)”, és „(c)” jelölések mutatják, ahol ezek hiányoznak, nincs a minták közt szignifikáns különbség ($p > 0,05$). Az 1/A részből a bogyótípusokon talált baktériumok teljes abundanciáját olvashatjuk le. Ez alapján a szürkerothadt (GR) és nemesrothadt (NR) bogyók szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) mutatnak az egészséges (H) bogyóval szemben. Az 1/C panel az egyes dűlőkön talált baktériumok abundanciáját mutatja. Ebben az esetben szignifikáns eltérés ($p < 0,05$) a Betsek (B) dűlő abundanciájában volt. Az 1/B és 1/D panelek a bogyótípusok és dűlők alfa-diverzitásának (richness/fajgazdagság/minőségi összetétel) különbségeit ábrázolják. Az 1/B rész demonstrálja, hogy nincs szignifikáns eltérés, de az egészséges és nemesrothadt bogyóknál nagyobb diverzitású a baktériumközösség, annak ellenére, hogy a szürkerothadt bogyóban volt a legmagasabb az abundancia. Az 1/D panelen a dűlők alfa-diverzitásukban szignifikánsan különböznek ($p < 0,05$) egymástól.



1. ábra: Az ábrákon a különböző bogyótípusok és dülők esetében gyűjtött minták baktériumközösségének összes abundancia és fajgazdagság eloszlásai láthatók. A függőleges tengelyek az A és C ábra esetében az abundancia összegét (abundance), a B és D ábra esetében a fajgazdagságot (Richness), azaz az alfa-diverzitást mutatja. A vízszintes tengelyen a kategória feliratok mellett (H – egészséges, NR – aszú, GR – szürkerothadt, és Betsek, SzTamas – Szent Tamás, Uragy – Úragya) a párosított Wilcoxon tesztek által szignifikánsan különbözőnek becsült csoportok jelölése látható kibetűkkel. A dobozok színei a többi ábrával egységes módon pusztán a jobb érthetőséget segítik.

5.2 NMDS

Az abundanciával kapcsolatos elemzések után a baktériumközösség összetételének vizsgálatára is sor került. Erre egy Bray-Curtis távolságmétrikán alapuló többváltozós ordinációs diagramot (NMDS) készítettem, ez látható a 2. ábrán. A közösségbeli eltérések kvantifikálása a mintatípusokban, permutációs többváltozós ANOVA-moddal történt. Ezen eredmények alapján a minták elkülönülését a bogyótípus 11,7%-ban határozza meg, míg a dülő 7,7%-ban ($p < 0,001$).

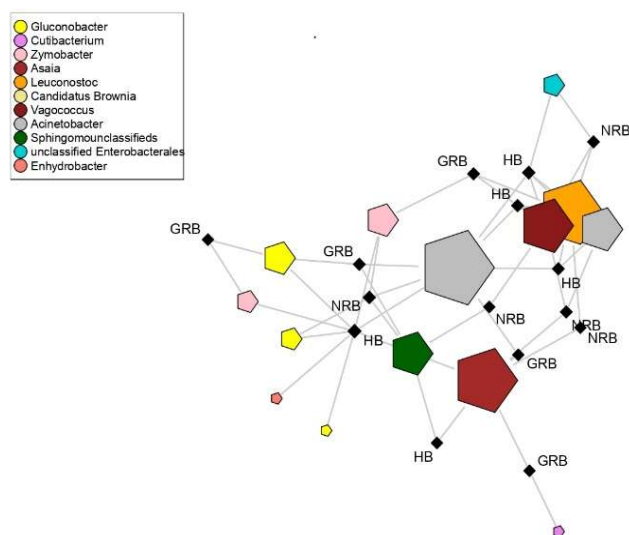


2. ábra: A minták eloszlása NMDS ordináció alapján, zöld színnel az egészséges bogyótípus-, sárgával a nemesrothadt bogyótípus-, szürkével a szürkerothadt bogyótípus eloszlását láthatjuk. A színek leghalványabb árnyalatával jelölt pontok a Betsek-, a közepesen halvány a Szent Tamás-, a legsötétebb pedig az Úragya dülő mintáit jelölik. Az ábrafelíratban a Phase a bogyótípusok a Cru pedig a mintavételi helyek szerinti modellek PERMANOVA eredményeit mutatják, még hozzá az R^2 (Rsq) és a p -értéket.

5. 3 A baktérium közösségek előfordulása a különböző dűlőkben és különböző bogyótípusokon

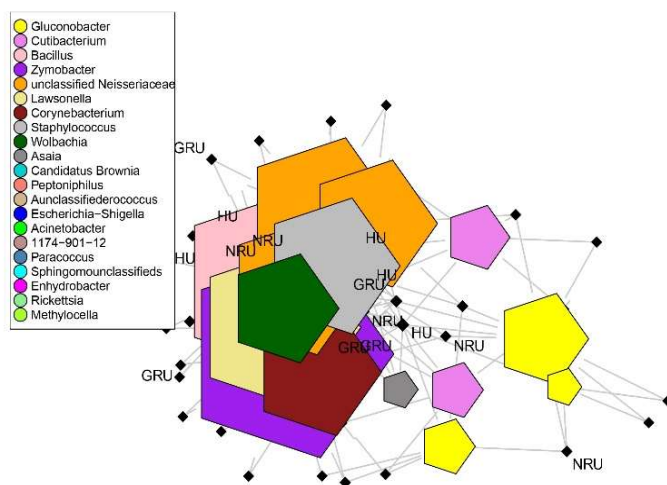
5.3.1 A dűlök baktériumközössége

A 3. ábrán a Betsek dűlőben előforduló baktérium taxonok láthatók, melyek a következők: Gluconobacter, Cutibacterium, Zymobacter, Asaia, Leuconostoc, Candidatus Brownia, Vagococcus, Acinetobacter, Sphingomounclassifieds, unclassified Enterobacterales és Enhydrobacter. Az ábrán jól látható, hogy az Acinetobacter, Asaia és Leuconostoc nemzetségek szerepelnek nagyobb előfordulással ábrázolva, melyek közül az Acinetobacter és Leuconostoc nemzetségek jelentős borászati szerepet töltenek be. Az Acinetobacter fajok az ecetsav termelésben jeleskednek, ami a GR bogyótípus esetében nem meglepő, hiszen ezen bogyótípus nem alkalmas borászati termék előállítására, bekerülve az alapanyagba kifejezett borhibát okoz (Brischetto et al. 2024). Az NR bogyótípus esetében is jelentős mennyiségben vannak jelen Acinetobacter fajok, ami szintén lehetséges, bár az erjedés folyamán nem nyernek teret a magas cukor és alkohol tartalmú közegben, mégis az NR bogyótípusból készülő aszúborok termék-leírása szerint magasabb illósav tartalom megengedett (Soós, et al., 2019). A Leuconostoc fajok pedig az almasavbontásban játszhatnak szerepet a borkészítés során (König és Fröhlich, 2017).



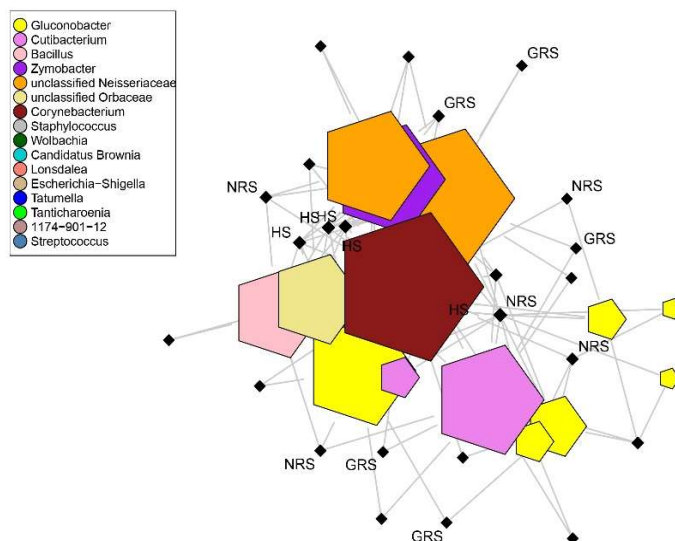
3. ábra: A Betsek dűlő baktérium közössége a három különböző bogyótípuson. Az ábrán látható jelölések szerint a GR (szürkerothadt), NR (nemesrothadt), H (egészséges) a különböző bogyótípusokat jelölik, a B betű pedig a Betsek dűlőt jelöli. Az ábrán látható ötszögek mérete arányos az előfordulási gyakorisággal.

A 4. ábra mutatja be az Úrágya dülő baktérium közösségét, ahol látható, hogy többféle baktérium taxon szerepel a Betsek dűlőben előfordulókhöz képest. Az elemzéseim alapján az alábbi baktérium taxonokat azonosítottam az Úrágya dűlőben: *Gluconobacter*, *Cutibacterium*, *Bacillus*, *Zymobacter*, unclassified *Neisseriaceae*, *Lawsonella*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Wolbachia*, *Asaia*, *Candidatus Brownia*, *Peptoniphilus*, *Escherichia-Shigella*, *Acinetobacter*, *Paracoccus*, *Sphingomouclassifieds*, *Enhydrobacter*, *Rickettsia* és *Methylocella*. A fent leírtak közül nagy arányban fordulnak elő a szőlőbogyó típusokon a *Zymobacter*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Lawsonella*, *Corynebacterium*, *Wolbachia*, *Neisseriaceae* és *Gluconobacter* nemzetségek. A *Bacillus* nemzetség növekedésgátló aktivitással bír *B. cinerea* és *C. gloeosporioides* ellen, iturin-A biokontroll vegyület termelés következtében (Furuya et al. 2011). A *Staphylococcus* abundanciája IPM hatására növekedhet a szőlőbogyóban (Vaghari et al. 2023), de humán patogén fajok is tartoznak ebbe a taxonba (Yousaf et al. 2014). A *Corynebacterium* és *Wolbachia* taxonokról nem találtam forrást, ahol szőlőbogyón detektálták, de az utóbbi a rovarok 60%-val endoszimbionta (Moussa et al. 2020).



4. ábra: Az Úrágya dűlő baktérium közössége a három különböző bogyótípuson. Az ábrán látható jelölések szerint a GR (szürkerothadt), NR (nemesrothadt), H (egészséges) a különböző bogyótípusokat jelölik, a B betű pedig a Betsek dűlőt jelöli. Az ábrán látható ötszögek mérete arányos az előfordulási gyakorisággal.

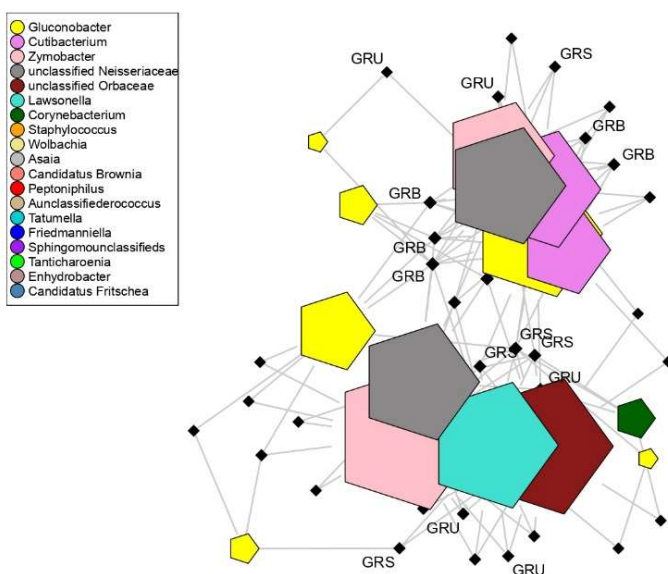
Az 5. ábrán mutatom be a Szent Tamás dűlő baktérium közösségét, ami 16 különböző taxont foglal magába. A taxonok között a jelentősebb nemzetségek közé tartozik a *Gluconobacter*, *Zymobacter*, *Corynebacterium* és *Cutibacterium*. Az Úrágya dűlő esetében szintén nagy arányban fordultak elő a *Gluconobacter*, *Zymobacter* és *Corynemacterium* nemzetségek, míg a Betsek dűlő esetében szintén előfordultak, de alacsonyabb arányban. Az illósav termelés szempontjából jelentős baktérium nemzetség a *Gluconobacter*, ezen dűlő baktérium közösségében is nagy szerepet játszik. A *Cutibacterium* is megtalálható mindhárom dűlő esetében, de a Szent Tamás dűlőben nagyobb arányban fordul elő. A *Cutibacterium* nemzetség egyes fajai a szőlőben gyakran endofita módon vannak jelen és korábban kimutatták, hogy bizonyos illékony vegyületek metabolizmusában játszhat szerepet (Martins et al. 2024).



5. ábra: Az Szent Tamás dűlő baktérium közössége a három különböző bogyótípuson. Az ábrán látható jelölések szerint a GR (szürkerothadt), NR (nemesrothadt), H (egészséges) a különböző bogyótípusokat jelölik, az „S” betű pedig a Szent Tamás dűlőt jelöli. Az ábrán látható ötszögek mérete arányos az előfordulási gyakorisággal.

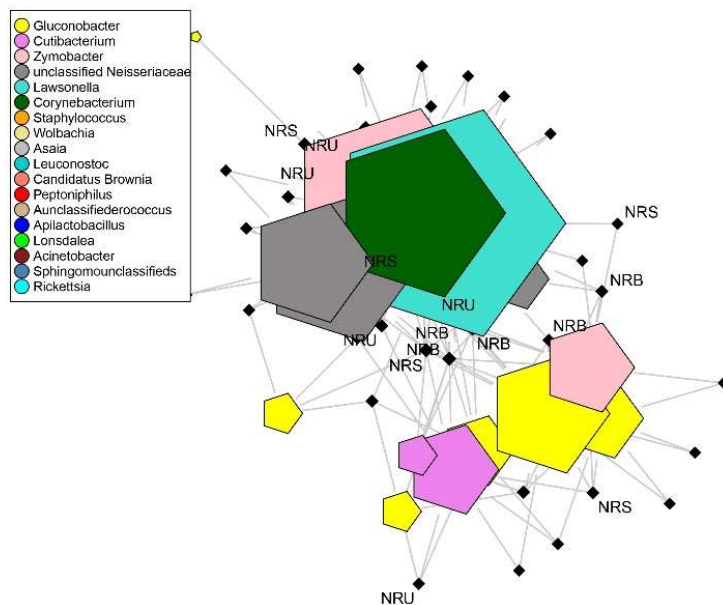
5.3.2 Egyes bogyótípusok baktériumközössége

A 6. ábrán különböző termőhelyekről gyűjtött szürkerothadt bogyók baktériumközössége látható. A legnagyobb mennyiségben a *Gluconobacter* taxon (sárga) előfordulása látható, valamint nagy arányban fordulnak elő a *Zymobacter*, *Cutibacterium*, *Lawsonella*, nemzetségek. A *Gluconobacter* taxonba ecetsavtermelő baktériumok tartoznak (Navarro et al. 2013). A korábbi kutatásokból kiderül, hogy a *Gluconobacter* baktériumok illóanyagai gátolják a *Botrytis cinerea* növekedését (Delgado et al. 2021.) és növelik az aszúbogyóból készült must SO_2 megkötő képességét glükonsav-, 5-oxofruktóz-, dihidroxiaceton termelésének következtében (Barbe et al. 2001). A *Zymobacter* taxont korábban főként szüret után azonosították szőlőn (Awad et al. 2022). A *Cutibacterium* fajok jelenléte összefüggésbe hozható a napsugárzásnak való kitettségével és az átlag magas hőmérséklettel (Ding et al. 2024) és a szőlőtermés Kitozán kezelése hatására megemelkedhet az abundanciájuk a bogyókon (Miliordos et al. 2022). Tudomásunk szerint az általunk vizsgált adatbázisok alapján a *Lawsonella* nemzetséget még nem detektálták szőlőbogyón.



6. ábra: A szürkerothadt bogyó (GR) baktérium közössége a három különböző dűlőn. Az ábrán látható jelölések szerint a GR (szürkerothadt) bogyót jelöli, a GRB a Betsek dűlő szürkerothadt bogyóira-, a GRU az Úrágya-, a GRS a Szent Tamás dűlő szürkerothadt bogyóira vonatkozik. Az ábrán látható ötszögek mérete arányos az előfordulási gyakorisággal.

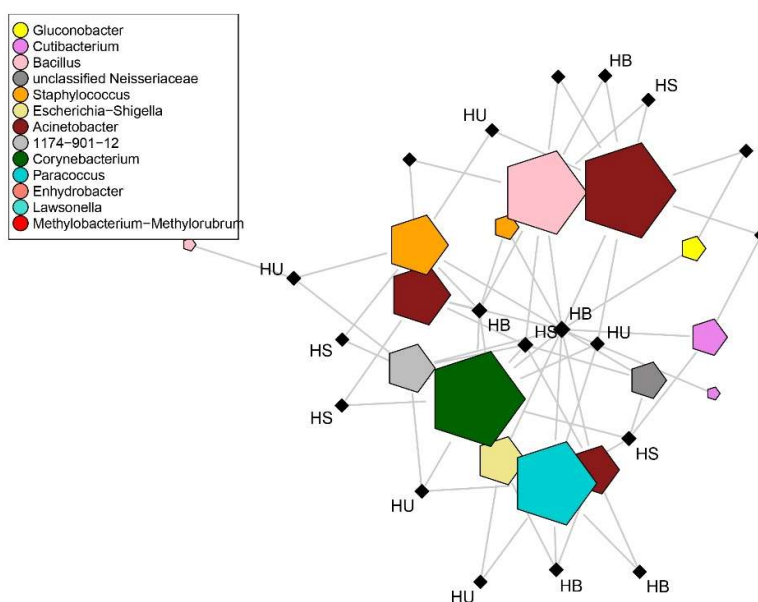
A 7. ábrán a nemesrothadt bogyón azonosított baktérium taxonok láthatók. Itt is a *Gluconobacter* nemzetség mutatta a legnagyobb abundanciát. Ezt követték a *Cutibacterium*, a *Zymobacter*, az *unclassified Neisseriaceae*, a *Lawsonella* és *Corynebacterium* nemzetségek. Előfordultak még a *Staphylococcus*, *Wolbachia*, *Asaia*, *Leuconostoc*, *Candidatus Brownia*, *Peptoniphilus*, *unclassified Aerococcus*, *Apilactobacillus*, *Lonsdalea*, *Acinetobacter*, *Sphingomonas*, *Rickettsia* taxonok. Az *Asaia* ecetsavtermelő baktériumnemzetség, dél-ausztrál szőlőkön detektálták, legnagyobb számban egészséges és gombás fertőzéssel megfertőzött szőlőkben volt jelen (Mateo et al. 2014). Ezen nemzetség egy faja, az *Asaia siamensis* Tempranillo borok tejsavas erjedése közben jelen volt (Ruiz et al. 2010). A *Candidatus Brownia* a gyökér lisztbogarak obligát szimbiontája (Choi et al. 2024), de szőlőbogyón tudomásom szerint még nem találták meg. A *Peptoniphilus* nemzetséget Kínában azonosították szőlőbogyó külső felszínén, pozitív korrelációt mutatott a *Gallicola* és a *Bacteroides* taxonokkal, valamint a *Pichia* taxonnal (Xu et al. 2022). Az *Aerococcus* taxonba tejsavbaktériumok tartoznak, ezeket főleg rothadt szőlőkön azonosították (Lleixà et al. 2018). Az *Apilactobacillus* taxonhoz tartozó *Apilactobacillus kunkei* általában lassú lefolyású vagy megakadt fermentációból izolálható (Edwards et al. 1998). A *Lonsdalea* fajok közül a *Lonsdalea populi* spirálfűz növényénél kéregrákot okoz (Li et al. 2019), viszont erről a nemzetségről sem találtam olyan kutatást, ahol szőlőről azonosították volna. Az *Acinetobacter* a *Botrytis cinerea* direkt antagonistája, valamint a szőlőnövény védekezőmechanizmusait is képes indukálni *Botrytis cinerea* ellen (Trotel-Aziz et al. 2008). A *Sphingomonas* nemzetségről kiderült, hogy túlél a botritizált bor fermentációját, de hatásuk az aszúborra egyelőre ismeretlen (Bokulich et al. 2013), egy másik kutatásban a *Botrytis* fertőzés növelte ennek a nemzetségnek az abundanciáját a borban (Bubeck et al. 2020). Továbbá a *Sphingomonas* nemzetség dohánylevelekben polyfenolok bontására is képes volt, klorogénsav köztesterméket eredményezett (fontos aroma prekursor) (Feng et al. 2018). Egyes *Rickettsia* fajok/*Rickettsia*-szerű organizmusok (*Rickettsia-like-organisms*) számos növénybetegséggel összefüggésbe hozhatók (Alma et al. 2008).



7. ábra: A nemesrothadt bogyó (NR) baktérium közössége a három különböző dűlőn. Az ábrán látható jelölések szerint az NR a nemesrothadt bogyót jelöli, az NRB a Betsek dűlő nemesrothadt bogyóira-, az NRU az Úrágya-, az NRS a Szent Tamás dűlő nemesrothadt bogyóira vonatkozik.

Az ábrán látható ötszögek mérete arányos az előfordulási gyakorisággal.

A 8. ábra az egészséges szőlőbogyó baktériumközösségét ábrázolja. A *Gluconobacter*, *Cutibacterium*, *Bacillus*, *unclassified Neisseriaceae* és *Staphylococcus* fajok ezekben is dominálnak a bogyón. Az *Escherichia-Shingella* nemzetség tagjai is megtalálhatók, ezek között vannak növekedés serkentő fajok, valamint lignin degradáló fajok, amik egy korábbi kutatásban elsősorban szőlő gyökértörzsén fordultak elő (Vink et al. 2021), de élelmiszer eredetű humán és állati patogén fajokkal is rendelkezik ez a nemzetség (Šikuten et al. 2020). Az *1174-901-12* taxont Ausztriában *P. viticola* (peronoszpóra) ellen kevésbé rezisztens szőlőkön találták meg (Wicaksono et al. 2023). A *Paracoccus* nemzetség jelenléte szőlőben szignifikánsan korrelál az „organic pest management”-el (Campisano et al. 2014). Egy *Enhydrobacter* nemzetséghez tartozó baktérium, az *Enhydrobacter aerosaccus* a *Colletotrichum capsici*-, a *Fusarium solani*-, a *Phytophthora capsici*- és a *Colletotrichum gloeosporioides* patogén gombafajok micéliumnövekedésének gátlását okozzák (Weisskopf 2013). A *Methylobacterium-Methylobacterium* nemzetségről egy kutatásban azt feltételezik, hogy a *P. viticola* antagonistája, valamint a *Candidatus phytoplasma* (szőlősárgulás okozója) növekedését gátolja (Nityagovsky et al. 2024).



8. ábra: Az egészséges bogyó (H) baktérium közössége a három különböző dűlőn. Az ábrán látható jelölések szerint az H a nemesrothadt bogyót jelöli, a HB a Betsek dűlő egészséges bogyóira-, a HU az Úrágya-, a HS a Szent Tamás dűlő egészséges bogyóira vonatkozik. Az ábrán látható ötszögek mérete arányos az előfordulási gyakorisággal.

5.4 A talált baktériumnemzetségek lehetséges hatása

A nemzetségek amelyek minden bogyótípuson és az összes termőterületen előfordultak, a *Gluconobacter*, és a *Cutibacterium* voltak. A *Gluconobacter* nemzetség ecetsavtermelő baktériumokat foglal magába (Navarro et al. 2013). A *Gluconobacter* hatással van az alkoholos erjedésre a borkészítés során, képes befolyásolni a borok glükóz, fruktóz, etanol, glicerin, acetaldehid, etil-acetát, izo-amil-alkohol és szerves savtartalmának koncentrációját (Drysdale & Fleet, 1989). A *Gluconobacter* fajok az aszúbogyóból készült must kémiaiáját is megváltoztathatják, mivel glükonsav-, 5-oxofruktóz-, dihidroxiaceton termelésének következtében megnövelik a must SO_2 megkötési kapacitását (Barbe et al. 2001). Egy további kutatás a *Gluconobacter* szerves illóolajairól megállapította, hogy gátolják a *Botrytis cinerea* növekedését (Delgado et al. 2021).

A *Cutibacterium* taxonhoz tartozó fajok jelenléte a szőlőn összefüggésbe hozható a magas hőmérséklettel és a napsugárzásnak kitettséggel (Ding et al. 2024) és Kitozán kezelés hatására is megemelkedhet a mennyiségük a szőlőbogyón (Miliordos et al. 2022). A szőlőben gyakran endofita módon vannak jelen és kimutatták, hogy bizonyos illékony vegyületek metabolizmusában lehetnek hatással (Martins et al. 2024).

A *Zymobacter* nemzetség, az egészséges bogyó kivételével, minden bogyótípuson és dűlőn azonosításra került. Ezt eddig nagyobb mennyiségben, szüretelt szőlőn találták meg (Awad et al. 2022).

A *Candidatus Brownia* szintén csak az egészséges bogyóról származó mintákban nem volt megtalálható, minden másik mintában jelen volt. Ez a baktérium gyökér lisztbogarak obligát szimbiontája (Choi et al. 2024). Tudomásom szerint szőlőbogyóról még nem izolálták.

A *Corynebacterium* taxont a Betsek dűlőt leszámítva minden mintában detektálta az adatbázis program, viszont erről a nemzetségről nem találtunk olyan kutatást, amiben szőlőn azonosították. Hasonlóan a *Corynebacterium* fajokhoz, a *Neisseriaceae* baktériumcsaládot és a *Staphylococcus* baktériumnemzetséget is csak a Betsek dűlőről származó mintákban nem lehetett megtalálni, a többi mintában jelen volt. A *Neisseriaceae* a baktériumcsaládot Primorszk-vidéki szőlőkön már azonosították (Aleynova et al. 2023). A *Staphylococcus* taxon abundanciája az Integrated Pest Management hatására emelkedhet (Vaghari et al. 2023). Ugyanez a nemzetség phytopatógének elleni biokontrollban is felhasználható *Bacillus* és

Variovorax izolátumokkal együtt (Vaghari et al. 2023). A *Staphylococcus* nemzetségbe humán patogén fajok is tartoznak (Yousaf et al. 2014).

A *Lawsonella* taxon két minta kivételével (a Betsek és Szent Tamás dűlők), szintén minden mintában benne volt, ebből arra következtethetünk, hogy az a faj az Úrágya dűlőről gyűjtött bogyókról származik. Ezt a nemzetséget már megtalálták az emberi bőr mikrobiomjában (Kim et al. 2021), de szőlőn még nem azonosították.

Az *Asaia* nemzetséghez tartozó fajok is jelen voltak 2 minta kivételével (egészséges bogyó és Szent Tamás dűlő) a mintáinkban, ecetsavtermelő baktériumok tartoznak ide (Mateo et al. 2014). A taxont korábban már dél-ausztráliai szőlőkön megtalálták, legnagyobb számban egészséges és gombás fertőzéssel fertőzött bogyókon fordult elő (Mateo et al. 2014). Az *Asaia siamensis* fajt Tempranillo borok tejsavas erjedéséből izolálták (Ruiz et al. 2010).

A Betsek dűlő mintáit és az egészséges bogyó mintáit leszámítva jelen volt a *Wolbachia* nemzetség a szőlőbogyókon. Ez a nemzetség a rovarok több mint 60%-val endoszimbionta, és akár biokontroll ágensként is használható rovarok által transzmittált patogének ellen (Moussa et al. 2020).

A *Bacillus* nemzetséget is azonosítottam az adatbázis segítségével, ez jelen volt az egészséges bogyó mintáin és a Szent Tamás és Úrágya termőterületekről származó mintákon. A Betsek termőhelyről származó mintákból hiányzott, úgy, mint a szürkerothadt és nemesrothadt bogyókról. Erről a nemzetségről el lehet mondani, hogy növekedésgátló aktivitással rendelkezik *Botrytis cinerea* és *Colletotrichum gloeosporioides* (anthraknózis okozója) ellen, iturin-A termelés következtében (Furuya et al. 2011). Továbbá képes olyan fonalasgombák, élesztőgombák és baktériumok gátlására, amelyek oxtratoxin-A termelésre képesek (Bae et al. 2004).

Az *Orbaceae* család a Betsek és Úrágya dűlők és a nemesrothadt és szürkerothadt bogyók kivételével jelen volt a Szent Tamás dűlőről származó mintákban és az egészséges bogyón. Az ide tartozó baktériumok Y1 1-hexanal, Y3 (E)-2-hexenal és Y41 (E)-2-hexen-1-ol aromákkal hozzájárulnak a fermentáció során kialakuló aromaprofilhoz (Shi et al. 2022).

A *Peptoniphilus* taxon a nemesrothadt- és szürkerothadt bogyókon- és az Úrágya dűlő mintáin volt megtalálható. Kínában már azonosították szőlőbogyó külső felszínén, pozitív korrelációt mutatott a *Gallicola*, a *Bacteroides* és a *Pichia* taxonokkal (Xu et al. 2022). Egy másik kínai

szőlőkön végzett kutatásban, az egyik legnagyobb számban előforduló nemzetség volt a szőlőbogyó külső felszínén (Yao, 2023).

A mintáinkban ugyanilyen előfordulást mutatott az *Aerococcus* taxon is. Egy ehhez hasonló kutatásban nagy számban botritiszes és savanyúrothadással fertőzött, rothadt szőlők fermentációja közben találták meg ezt a nemzetséget, amibe tejsavbaktériumok tartoznak (Lleixà et al. 2018).

A Szent Tamás és Úrágya dűlők mintáiban, illetve az egészséges bogyókban fordult elő az *Escherichia-Shigella* taxon. Ide, többek között, élelmiszer eredetű humán és állati patogén fajok tartoznak (Šikuten et al. 2020). Vannak köztük növekedés serkentő- és lignin degradáló fajok is, amiket már megtaláltak szőlőnövény (*Vitis vinifera*) gyökértörzsén (Vink et al. 2021).

Az *Acinetobacter* nemzetség az egészséges bogyó, a nemesrothadt bogyó és az Úrágya- és Betsek dűlőkről származó mintákban volt benne. Ez a nemzetség a *Botrytis cinerea* direkt antagonistája (pl: kataláz aktivitás), és indukálja a szőlőnövény védekezőmechanizmusait (lipoxigenáz, fenilalanin ammónia liáz és kitináz aktiválás a levélben) *B. cinerea* ellen (Trotel-Aziz et al. 2008). A *Botrytis cinerea* elleni védelmi rendszert up-reguláció és defense-proteinek által is képes triggerelni (Mian et al. 2024).

Az *1174-901-12* taxon az egészséges bogyó, Szent Tamás, Úrágya dűlők mintáin volt megtalálható. Ezt *P. viticola* ellen kevésbé rezisztens szőlők levelein detektálták (Wicaksono et al. 2023). A *Lactococcus* és *Rhodanobacter* taxonokkal együtt negatív korrelációt mutatott bor metabolitokkal (heptánsav 108, 2-hexánsav és etil-észter) (Wang, 2020).

A *Paracoccus* nemzetség az egészséges bogyón és az Úrágya dűlőről származó mintákon került azonosításra. Ennek a nemzetségnek a jelenléte szőlőbogyón szignifikánsan korrelál az Organic Pest Management -el (Campisano et al. 2014).

A nemesrothadt, szürkerothadt, Úrágya és Betsek mintákon jelen volt a *Sphingomonas* nemzetség. Az ehhez a taxonhoz tartozó fajok túlélnek az alkoholos fermentációt, ám pontos hatásuk a borra még ismeretlen (Bokulich et al. 2013). Glükózidáz szekréciójára és polifenolok bontására is képesek voltak dohánylevelekben (Feng et al. 2018). Az utóbbi köztesterméke a klorogénsav, amely fontos aroma prekursor (aromás szerves sav) (Feng et al. 2018). A botritisz fertőzés növelte ennek a nemzetségnek az abundanciáját a borban (Bubeck et al. 2020).

Az *Enhydrobacter* taxon az egészséges bogyó- és a szürkerothadt bogyó mintáiban, valamint a Betsek dűlőről származó mintában volt benne. Ezen baktériumnemzetség tagjait megtalálták egy korábbi kutatásban szőlőbogyón, az analízis során klasztereződött a *Lachancea quebecensis* erősen fermentatív élesztőgombával (Martins et al. 2024). Egy ehhez a nemzetséghez tartozó faj, az *Enhydrobacter aerosaccus*, a *Colletotrichum capsici*-, a *Fusarium solani*-, a *Phytophthora capsici*- és a *Colletotrichum gloeosporioides* patogén gombafajok micéliumnövekedésének gátlását okozza (Weisskopf, 2013).

A *Rickettsia* nemzetség számos növénybetegséggel összefüggésbe hozható (Alma et al. 2018). Ez a nemzetség a nemesrothadt bogyókhoz- és az Úrágya dűlőhöz köthető mintákban volt jelen.

A *Leuconostoc* taxon a Betsek termőhelyről származó mintákban és a nemesrothadt bogyók mintáiban volt megtalálható. Ez a tejsavbaktériumokat magába foglaló nemzetség összefüggésbe hozható olyan molekulák megjelenésével a borkészítés során, amelyek az ízre negatív hatással vannak (egérszagra emlékeztető ízhatás előidézése) (Costello et al. 2001). Továbbá, az almasavbontásban is van szerepük a borkészítés során (König és Fröhlich 2017). A *Leuconostoc mesenteroides* az *Allorhizobium vitis* által okozott szőlőgolyva-, és az *Erwinia amylovora* okozta tűzelhalás antagonistája (Sabri et al. 2023).

A *Tatumella* nemzetség a szürkerothadt bogyókon és a Szent Tamás dűlőről származó mintákon jelen volt. Egy kutatásban ez volt a legmagasabb abundanciájú baktériumnemzetség vörös és fehérborban (Bubeck et al. 2020). Az abundanciája a teljes savtartalommal negatív korrelációt mutatott (Bubeck et al. 2020). A fermentáció előrehaladtával a fehérborban az abundanciája nőtt (Bubeck et al. 2020). A botritisz csökkentette a *Tatumella* relatív abundanciáját fehérborban (Bubeck et al. 2020). Feltételezett, hogy szőlőléből kinyerhető endogén baktérium (Bubeck et al. 2020). Egy görög kutatásban botritisz fertőzött szőlőkön jelen volt (Nisiotou et al. 2011).

A *Streptococcus* nemzetség a Szent Tamás termőterületről származó mintákban azonosításra került, de a bogyótípusok mintáiban nem jelent meg. Ezt a szőlőnövény keringési nedvéből Pierce-betegség során detektálták (Deyett & Rolshausen, (2019), valamint szőlőlevélből és azonosították (Pinto et al. 2014).

Az *Apilactobacillus* taxon kizárólag a nemesrothadt bogyótípus mintáinkban volt jelen és a termőterületnek nem került azonosításra. Egy ehhez a taxonhoz tartozó faj, az

Apilactobacillus kunkei általában lassú lefolyású vagy megakadt fermentációból izolálható (Edwards et al. 1998).

A *Methylocella* taxon az Úrágya dűlőről származó mintákban megtalálható volt, de a bogyótípusok egyikén sem jelent meg. Ide metanotróf baktériumok tartoznak, amelyek képesek a levegő metántartalmát szén-dioxiddá alakítani, amely esszenciális a fotoszintézishez (Restu et al. 2024). Szőlőn, korábbi kutatások még nem azonosították.

A *Lonsdalea* nemzetség, kutatásomban a nemesrothadt bogyóval- és a Szent Tamás dűlő mintáival hozható összefüggésbe. Ezt a nemzetséget (tudomásom szerint) szőlőn még nem detektálták korábbi kutatásokban. A *Salix matsudana* (spirálfűz) növényenél egy ebbe a taxonba tartozó faj (*Lonsdalea populi*) kéregrákot okoz (Li et al. 2019).

A *Methylobacterium-Methylobacterium* taxon az egészséges bogyó mintáiban fordult elő. Feltételezhető, hogy az ide tartozó fajok a *P. viticola* (peronoszpóra) antagonistái, valamint gátolják a *Candidatus phytoplasma* (szőlősárgulás okozója) növekedését (Nityagovsky et al. 2024). Illóanyagokat termelnek a borkészítés során, amivel hozzájárulnak a borok aromaprofiljához (Wassermann et al. 2021).

A *Tanticharoenia* nemzetséget a szürkerothadt bogyó- és a Szent Tamás dűlő mintáiban azonosította az adatbázis. Ennek fajai ecetsavbaktériumok, amik az aszúbogyóból kinyert lében, a musttól kezdve a végső mintavételi pontig jelen voltak fermentáció során, nagyobb mennyiségben, mint az egészséges és szürkerothadt szőlőkből készült must fermentációja során (Lleixà et al. 2018). Az abundanciája aszúbogyóból készült lében szignifikánsan eltért az egészséges és szürkerothadt szőlőből kinyert lében levő abundanciától (Lleixà et al. 2018).

A szürkerothadt bogyó baktériumközösségében jelen volt a *Friedmaniella* nemzetség. Ezt korábban szőlő törzsében detektálták (Paolinelli et al. 2022). Egy másik kutatásban, endofita baktériumként szőlőmagból izolálták (Alibrandi et al. 2018).

A szürkerothadt bogyóban detektált *Candidatus Fritschea* esetében nem találtam kutatást, amelyben szőlőn- vagy borban azonosították. A *Bemisia tabaci* fehérleány és a *Eriococcus spurius* pikkelyes rovar esetében endoszimbionta faj (Everett et al. 2005).

A *Vagococcus* a Betsek dűlő mintáiból került azonosításra. Ezt a nemzetséget korábban mediterrán szőlőkön találták meg (Singh et al. 2018).

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A kutatásomban, az ökológiai statisztikai elemzés segítségével, sikerült összehasonlítanom a három mintagyűjtési terület-, és a háromféle gyűjtött szőlőbogyó baktériumközösségét. Ezt elsősorban a bogyótípus határozta meg (11,7%-ban), míg a termőterület 7,7%-ban hatott a baktérium-összetételre (2. ábra). A kapott eredmények alapján, a három dülő baktériumközösségének alfa-diverzitása szignifikáns különbséget mutatott ($p < 0,05$), ami a terroir baktériumközösségre gyakorolt hatását támasztja alá. (1. ábra). A Betsek dülön talált baktérium ASV-ék abundanciája szignifikánsan ($p < 0,05$) kisebb volt a másik két dülő abundanciájánál (1. ábra).

A talált baktérium nemzetségek eredetüket és hatásukat tekintve sokszínűek. A felhasznált irodalmak szerint, az alábbi szerepeket vehetik fel a kutatásomban talált baktérium taxonok. Életmódjukat tekintve vannak köztük ecetsavbaktériumok (*Gluconobacter*, *Asaia*, *Tanticharoenia*) és tejsavbaktériumok (*Aerococcus*, *Apilactobacillus*, *Leuconostoc*). Több talált nemzetség *Botrytis cinerea* gombával szemben antagonista hatású (*Bacillus*, *Acinetobacter*, *Gluconobacter*), valamint egyéb növénybetegséget okozó mikroorganizmusokkal szemben antagonisták (*Enhydrobacter*, *Methylobacterium-methylorubrum*, *Bacillus*, *Leuconostoc*). A mintákban előfordultak különféle növényvédelmi eljárások hatására elszaporodó baktérium taxonok (*Staphylococcus*, *Cutibacterium*, *Paracoccus*), de növénybetegséget okozók is (*Rickettsia*, *Lonsdalea*). Eredetüket tekintve azonosításra kerültek rovarok által terjesztett taxonok (*Wolbachia*, *Candidatus Brownia*, *Candidatus Fritschea*), valamint humán/állati eredetű nemzetségek is (*Escherichia-Shigella*, *1174-901-12*, *Lawsonella*). Számos detektált nemzetség és család a borkészítés szempontjából jelentős hatású (*Gluconobacter*, *Acinetobacter*, *Leuconostoc*, *Asaia*, *Sphingomonas*, *Orbaceae*, *1174-901-12*, *Leuconostoc*, *Tatumella*, *Apilactobacillus*, *Methylobacterium-methylorubrum*, *Tanticharoenia*), de szőlészeti jelentőségű taxonok is megtalálhatóak voltak a mintákban (*Cutibacterium*, *Escherichia-Shigella*, *Zymobacter*, *Staphylococcus*, *Wolbachia*, *Peptoniphilus*, *Tatumella*, *Streptococcus*, *Methylocella*, *Friedmaniella*, *Vagococcus*). Szőlőben endogén nemzetségeknek bizonyulnak a *Cutibacterium*, *Tatumella*, *Friedmaniella* taxonok. Biokontoll szempontjából a *Staphylococcus*, *Wolbachia* és *Bacillus* nemzetségről írnak a kutatásban felhasznált irodalmak. A talált források szerint, a borkészítés során az aroma összetételre a *Gluconobacter*, *Orbaceae*, *1174-901-12*, *Leuconostoc* és *Methylobacterium-methylorubrum* taxon hat, a fermentációt pedig az *Apilactobacillus*, *Gluconobacter*, *Asaia* és

Tatumella nemzetségek befolyásolhatják. A *Sphingomonas*, *Tanticharoenia* és *Aerococcus* abundanciája a botritiszes borokban, egyes kutatások szerint emelkedett, a *Tatumella* abundanciája ilyen típusú borokban pedig csökkent.

IRODALOMJEGYZÉK

Aleynova, O. A., Nityagovsky, N. N., Ananov, A. A., Suprun, A. R., Ogneva, Z. V., Dneprovskaya, A. A., ... & Kiselev, K. V. (2023). Bacterial and Fungal Endophytes of Grapevine Cultivars Growing in Primorsky Krai of Russia. *Horticulturae*, 9(12), 1257.

Alibrandi, P., Cardinale, M., Rahman, M. M., Strati, F., Ciná, P., De Viana, M. L., ... & Puglia, A. M. (2018). The seed endosphere of *Anadenanthera colubrina* is inhabited by a complex microbiota, including *Methylobacterium* spp. and *Staphylococcus* spp. with potential plant-growth promoting activities. *Plant and Soil*, 422, 81-99.

Alma, A., Sacchi, L., Favia, G., Bandi, C., Daffonchio, D., Bourtzia, K., & Miller, T. A. (2008). Symbiotic microorganisms in leafhopper and planthopper vectors of phytoplasmas in grapevine. *Insect Symbiosis*, 3, 339-359.

Arena, M. P., Romano, A., Capozzi, V., Beneduce, L., Ghariani, M., Grieco, F., ... & Spano, G. (2011). Expression of *Lactobacillus brevis* IOEB 9809 tyrosine decarboxylase and agmatine deiminase genes in wine correlates with substrate availability. *Letters in applied microbiology*, 53(4), 395-402.

Awad, M., Giannopoulos, G., Mylona, P. V., & Polidoros, A. N. (2022). Comparative analysis of grapevine epiphytic microbiomes among different varieties, tissues, and developmental stages in the same terroir. *Applied Sciences*, 13(1), 102.

Bae, S., Fleet, G. H., & Heard, G. M. (2004). Occurrence and significance of *Bacillus thuringiensis* on wine grapes. *International journal of food microbiology*, 94(3), 301-312.

Barata, A., Malfeito-Ferreira, M., & Loureiro, V. (2012). The microbial ecology of wine grape berries. *International journal of food microbiology*, 153(3), 243-259.

Barbe, J. C., De Revel, G., Joyeux, A., Bertrand, A., & Lonvaud-Funel, A. (2001). Role of botrytized grape micro-organisms in SO₂ binding phenomena. *Journal of Applied Microbiology*, 90(1), 34-42.

Bi, K., Liang, Y., Mengiste, T., & Sharon, A. (2023). Killing softly: a roadmap of *Botrytis cinerea* pathogenicity. *Trends in plant science*, 28(2), 211-222.

- Bódalo, A., Borrego, R., Garrido, C., Bolivar-Anillo, H. J., Cantoral, J. M., Vela-Delgado, M. D., ... & Carbú, M. (2023). In Vitro Studies of Endophytic Bacteria Isolated from Ginger (*Zingiber officinale*) as Potential Plant-Growth-Promoting and Biocontrol Agents against *Botrytis cinerea* and *Colletotrichum acutatum*. *Plants*, *12*(23), 4032.
- Boddy, L., & Wimpenny, J. W. T. (1992). Ecological concepts in food microbiology.
- Bokulich, N. A., Joseph, C. L., Allen, G., Benson, A. K., & Mills, D. A. (2013). Correction: Next-generation sequencing reveals significant bacterial diversity of botrytized wine. *PLoS One*, *8*(10).
- Brischetto, C., Rossi, V., & Fedele, G. (2024). Knowledge gaps on grape sour rot inferred from a systematic literature review. *Frontiers in Plant Science*, *15*, 1415379.
- Bubeck, A. M., Preiss, L., Jung, A., Dörner, E., Podlesny, D., Kulis, M., ... & Fricke, W. F. (2020). Bacterial microbiota diversity and composition in red and white wines correlate with plant-derived DNA contributions and botrytis infection. *Scientific reports*, *10*(1), 13828.
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, *13*(7), 581–583.
- Campisano, A., Antonielli, L., Panher, M., Yousaf, S., Pindo, M., & Pertot, I. (2014). Bacterial endophytic communities in the grapevine depend on pest management. *PloS one*, *9*(11), e112763.
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., ... & Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the national academy of sciences*, *108*(supplement_1), 4516-4522.
- Capozzi, V., Ladero, V., Beneduce, L., Fernández, M., Alvarez, M. A., Benoit, B., ... & Spano, G. (2011). Isolation and characterization of tyramine-producing *Enterococcus faecium* strains from red wine. *Food Microbiology*, *28*(3), 434-439.

- Choi, J., Palanichamy, P., Lee, S., & Husnik, F. (2024). The diversification of mealybugs was triggered by new symbiont acquisitions and followed by adaptive radiations on host plants. *bioRxiv*
- Claassen, S., du Toit, E., Kaba, M., Moodley, C., Zar, H. J., & Nicol, M. P. (2013). A comparison of the efficiency of five different commercial DNA extraction kits for extraction of DNA from faecal samples. *Journal of microbiological methods*, 94(2), 103-110.
- Colmenares, A. J., Aleu, J., Duran-Patron, R., Collado, I. G., & Hernandez-Galan, R. (2002). The putative role of botrydial and related metabolites in the infection mechanism of *Botrytis cinerea*. *Journal of chemical ecology*, 28, 997-1005.
- Costello, P. J., Lee, T. H., & Henschke, P. (2001). Ability of lactic acid bacteria to produce N-heterocycles causing mousy off-flavour in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7(3), 160-167.
- Delgado, N., Olivera, M., Cádiz, F., Bravo, G., Montenegro, I., Madrid, A., ... & Besoain, X. (2021). Volatile organic compounds (VOCs) produced by *Gluconobacter cerinus* and *Hanseniaspora osmophila* displaying control effect against table grape-rot pathogens. *Antibiotics*, 10(6), 663.
- Deyett, E., & Rolshausen, P. E. (2019). Temporal dynamics of the sap microbiome of grapevine under high Pierce's disease pressure. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1246.
- Ding, Y., Wang, L., Wang, H., & Li, H. (2024). Dynamic Succession of Natural Microbes during the Ecolly Grape Growth under Extremely Simplified Eco-Cultivation. *Foods*, 13(10), 1580.
- Drysdale, G. S., & Fleet, G. H. (1989). The effect of acetic acid bacteria upon the growth and metabolism of yeasts during the fermentation of grape juice. *Journal of applied bacteriology*, 67(5), 471-481.
- Edwards, C. G., Haag, K. M., Collins, M. D., Hutson, R. A., & Huang, Y. C. (1998). *Lactobacillus kunkeei* sp. nov.: a spoilage organism associated with grape juice fermentations. *Journal of Applied Microbiology* 84, 5, 698-702.

Elad, Y., Pertot, I., Cotes Prado, A. M., & Stewart, A. (2016). Plant hosts of *Botrytis* spp. *Botrytis—the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems*, 413-486.

Everett, K. D., Thao, M., Horn, M., Dyszynski, G. E., & Baumann, P. (2005). Novel chlamydiae in whiteflies and scale insects: endosymbionts ‘*Candidatus Fritschea bemisiae*’ strain Falk and ‘*Candidatus Fritschea eriococci*’ strain Elm. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(4), 1581-1587.

Feng Y, Yuan Q, Yang Z, Zhang T, Liu X, Li C, Wang E, Ma S, Zhang Z. (2018). Effect of *Sphingomonas* sp. strain on degradation of polyphenols in redried tobacco leaves. *Acta Tabacaria Sinica*, 29(01), 19–24.

Fillinger, S., & Elad, Y. (Eds.). (2016). *Botrytis-the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* (pp. 189-216). Cham, Switzerland: Springer International Publishing.

Fleet, G. H. (2003). Yeast interactions and wine flavour. *International journal of food microbiology*, 86(1-2), 11-22.

Francesca, N., Chiurazzi, M., Romano, R., Aponte, M., Settanni, L., & Moschetti, G. (2010). Indigenous yeast communities in the environment of “Rovello bianco” grape variety and their use in commercial white wine fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 337-351.

Furuya, S., Mochizuki, M., Aoki, Y., Kobayashi, H., Takayanagi, T., Shimizu, M., & Suzuki, S. (2011). Isolation and characterization of *Bacillus subtilis* KS1 for the biocontrol of grapevine fungal diseases. *Biocontrol Science and Technology*, 21(6), 705-720.

Geiger, A., Karácsny, Z., Golen, R., Váczy, K. Z., & Geml, J. (2022). The compositional turnover of grapevine-associated plant pathogenic fungal communities is greater among intraindividual microhabitats and terroirs than among healthy and Esca-diseased plants. *Phytopathology®*, 112(5), 1029-1035.

Gilbert, J. A., van der Lelie, D., & Zarraonaindia, I. (2014). Microbial terroir for wine grapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(1), 5-6.

Green, L. H., & Goldman, E. (Eds.). (2021). *Practical handbook of microbiology*. CRC press.

Groenewald, W. H., Van Reenen, C. A., & Dicks, L. M. T. (2006). Strains of *Lactobacillus plantarum* in grape must are also present in the intestinal tract of vinegar flies.

Hegyi, Á. I., Otto, M., Geml, J., Hegyi-Kaló, J., Kun, J., Gyenesei, A., ... & Váczy, K. Z. (2022). Metatranscriptomic analyses reveal the functional role of *Botrytis cinerea* in biochemical and textural changes during noble rot of grapevines. *Journal of Fungi*, 8(4), 378.

Hegyi-Kaló, J., Hegyi, Á. I., Geml, J., Zsófi, Z., Pálfi, X., & Váczy, K. Z. (2020). Physico-chemical characteristics and culturable microbial communities of grape berries change strongly during noble rot development. *Plants*, 9(12), 1809

Joos, L., Beirinckx, S., Haegeman, A., Debode, J., Vandecasteele, B., Baeyen, S., ... & De Tender, C. (2020). Daring to be differential: metabarcoding analysis of soil and plant-related microbial communities using amplicon sequence variants and operational taxonomical units. *BMC genomics*, 21, 1-17.

Kim, J. H., Son, S. M., Park, H., Kim, B. K., Choi, I. S., Kim, H., & Huh, C. S. (2021). Taxonomic profiling of skin microbiome and correlation with clinical skin parameters in healthy Koreans. *Scientific Reports*, 11(1), 16269.

König, H., & Fröhlich, J. (2017). Lactic acid bacteria. *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, 3-41.

Kontaxakis, E., Trantas, E., & Ververidis, F. (2020). Resveratrol: A fair race towards replacing sulfites in wines. *Molecules*, 25(10), 2378.

Lleixà, J., Kioroglou, D., Mas, A., & del Carmen Portillo, M. (2018). Microbiome dynamics during spontaneous fermentations of sound grapes in comparison with sour rot and *Botrytis* infected grapes. *International Journal of Food Microbiology*, 281, 36-46.

Li, Y., Wang, H. M., Chang, J. P., Guo, L. M., Yang, X. Q., & Xu, W. (2019). A new bacterial bark canker disease of *Salix matsudana* caused by *Lonsdalea populi* in China. *Plant Disease*, 103(9), 2467-2467.

Lorenzini, M., & Zapparoli, G. (2020). Epiphytic bacteria from withered grapes and their antagonistic effects on grape-rotting fungi. *International journal of food microbiology*, 319, 108505.

- Lundberg, D. S., Yourstone, S., Mieczkowski, P., Jones, C. D., & Dangl, J. L. (2013). Practical innovations for high-throughput amplicon sequencing. *Nature methods*, 10(10), 999-1002.
- Magyar, I. (2011). Botrytized wines. *Advances in food and nutrition research*, 63, 147-206.
- Magyar, I., & Soos, J. (2016). Botrytized wines—current perspectives. *International Journal of Wine Research*, 29-39.
- Mateo, E., Torija, M. J., Mas, A., & Bartowsky, E. J. (2014). Acetic acid bacteria isolated from grapes of South Australian vineyards. *International Journal of Food Microbiology*, 178, 98-106.
- Martins, V., López, R., Teixeira, A., & Gerós, H. (2024). Combined omics expose microbial niches of fungi and bacteria correlating with wine volatile profiles in Douro wine region. *LWT*, 193, 115769.
- Mezzasalma, V., Sandionigi, A., Guzzetti, L., Galimberti, A., Grando, M. S., Tardaguila, J., & Labra, M. (2018). Geographical and cultivar features differentiate grape microbiota in Northern Italy and Spain vineyards. *Frontiers in microbiology*, 9, 946.
- Mian, G., Belfiore, N., Marcuzzo, P., Spinelli, F., Tomasi, D., & Colautti, A. (2024). Counteracting Grey Mould (*Botrytis cinerea*) in Grapevine ‘Glera’ Using Three Putative Biological Control Agent Strains (*Paraburkholderia* sp., *Pseudomonas* sp., and *Acinetobacter* sp.): Impact on Symptoms, Yield, and Gene Expression. *Microorganisms*, 12(8), 1515.
- Miliordos, D. E., Tsiknia, M., Kontoudakis, N., Kouki, A., Zaharias, N., & Kotseridis, Y. (2022). A holistic approach to using biostimulants on the red grapevine variety, Mouhtaro—from grape to wine: Sourced from the research article: “Impact of Application of Absciscic Acid, Benzothiadiazole and Chitosan on Berry Quality Characteristics and Plant Associated Microbial Communities of *Vitis vinifera* L var. Mouhtaro Plants.” (Sustainability, 2021). Original language of the article: English. *IVES Technical Reviews, vine and wine*.
- Moussa, A., Passera, A., Sanna, F., Faccincani, M., Casati, P., Bianco, P. A., ... & Quaglino, F. (2020). Bacterial microbiota associated with insect vectors of grapevine Bois noir disease in relation to phytoplasma infection. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(11), fiae203.

- Nakajima, M., & Akutsu, K. (2014). Virulence factors of *Botrytis cinerea*. *Journal of General Plant Pathology*, 80, 15-23.
- Navarro, D., Mateo, E., Torija, M. J., & Mas, A. (2013). Acetic acid bacteria in grape must. *Acetic Acid Bacteria*, 2(s1), e4.
- Nievierowski, T. H., Veras, F. F., Silveira, R. D., Giocastro, B., Aloisi, I., Tranchida, P. Q., ... & Welke, J. E. (2023). A *Bacillus*-based biofungicide agent prevents ochratoxins occurrence in grapes and impacts the volatile profile throughout the Chardonnay winemaking stages. *International Journal of Food Microbiology*, 389, 110107.
- Nisiotou, A. A., Rantsiou, K., Iliopoulos, V., Cocolin, L., & Nychas, G. J. E. (2011). Bacterial species associated with sound and *Botrytis*-infected grapes from a Greek vineyard. *International journal of food microbiology*, 145(2-3), 432-436.
- Nityagovsky, N. N., Anan'ev, A. A., Suprun, A. R., Ogneva, Z. V., Dneprovskaya, A. A., Tyunin, A. P., ... & Aleynova, O. A. (2024). Distribution of *Plasmopara viticola* Causing Downy Mildew in Russian Far East Grapevines. *Horticulturae*, 10(4), 326.
- Otto, M., Geml, J., Hegyi, Á. I., Hegyi-Kaló, J., Pierneef, R., Pogány, M., ... & Váczy, K. Z. (2022). *Botrytis cinerea* expression profile and metabolism differs between noble and grey rot of grapes. *Food Microbiology*, 106, 104037.
- Li, Z., Pan, Q., Jin, Z., Mu, L., & Duan, C. (2011). Comparison on phenolic compounds in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon wines from five wine-growing regions in China. *Food Chemistry*, 125(1), 77-83.
- Paolinelli, M., Escoriza, G., Cesari, C., Garcia-Lampasona, S., & Hernandez-Martinez, R. (2022). Characterization of grapevine wood microbiome through a metatranscriptomic approach. *Microbial ecology*, 83(3), 658-668.
- Pichler, M., Coskun, Ö. K., Ortega-Arbulú, A. S., Conci, N., Wörheide, G., Vargas, S., & Orsi, W. D. (2018). A 16S rRNA gene sequencing and analysis protocol for the Illumina MiniSeq platform. *Microbiologyopen*, 7(6), e00611.
- Pinto, C., Pinho, D., Sousa, S., Pinheiro, M., Egas, C., & C. Gomes, A. (2014). Unravelling the diversity of grapevine microbiome. *PLoS One*, 9(1), e85622.

- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., ... & Glöckner, F. O. (2012). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research*, 41(D1), D590-D596.
- Restu, M., Sulastri, D., Khairina, Y., Christita, M., Simarmata, R., Khumairah, F. H., & Larekeng, S. H. (2024). Metagenomic insights from bacterial diversity of symptomatic and asymptomatic leaves of ebony (*Diospyros celebica* Bakh.). *ESS Open Archive eprints*, 560, 56034692.
- Ruiz, P., Seseña, S., Izquierdo, P. M., & Palop, M. L. (2010). Bacterial biodiversity and dynamics during malolactic fermentation of Tempranillo wines as determined by a culture-independent method (PCR-DGGE). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86, 1555-1562.
- Sabri, M., Habbadi, K., Achbani, E. H., Benkirane, R., El Handi, K., Ou-Zine, M., ... & Elbeaino, T. (2023). Antagonistic effect of *Leuconostoc mesenteroides* on grapevine crown gall and fire blight. *Journal of Crop Improvement*, 37(4), 431-446.
- Šikuten, I., Štambuk, P., Andabaka, Ž., Tomaz, I., Marković, Z., Stupić, D., ... & Preiner, D. (2020). Grapevine as a rich source of polyphenolic compounds. *Molecules*, 25(23), 5604.
- Singh, P., Gobbi, A., Santoni, S., Hansen, L. H., This, P., & Péros, J. P. (2018). Assessing the impact of plant genetic diversity in shaping the microbial community structure of *Vitis vinifera* phyllosphere in the Mediterranean. *Frontiers in Life Science*, 11(1), 35-46.
- Shi, X., Chen, Y., Xiao, J., Li, D., & Wang, B. (2020). Effects of harvest dates on microbial communities of ice grape skins from Xinjiang of China. *Process Biochemistry*, 98, 202-210.
- Shi, X., Liu, Y., Ma, Q., Wang, J., Luo, J., Suo, R., & Sun, J. (2022). Effects of low temperature on the dynamics of volatile compounds and their correlation with the microbial succession during the fermentation of Longyan wine. *LWT*, 154, 112661.
- Soós, J. (2019). *Elektronikus nyelv alkalmazása borok minőségi paramétereinek becslésére* (Doctoral dissertation, Szent István Egyetem (2000-2020)).
- Sponholz, W. R. (1993). Wine spoilage by microorganisms. *Wine microbiology and biotechnology*, 395-420.

Szabó, J., & Török, I. (1867). Tokaj-hegyaljai album= Tokaj-hegyaljaer album= Album de la tokay-hegyalja= Album of the tokay-hegyalja. (*No Title*).

Trotel-Aziz, P., Couderchet, M., Biagianti, S., & Aziz, A. (2008). Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. *Environmental and Experimental Botany*, 64(1), 21-32.

Vaghari Souran, S. E., Shekariesfahlan, A., Ashrafi, F., Naeimi, S., & Ghasemi, A. (2023). Isolation and identification of grapevine endophytic bacteria with antagonistic potential against *Fomitiporia mediterranea*, a pathogen involved in grapevine trunk disease. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 130(6), 1371-1384.

Vink, S. N., Dini-Andreote, F., Höfle, R., Kicherer, A., & Salles, J. F. (2021). Interactive effects of scion and rootstock genotypes on the root microbiome of grapevines (*Vitis* spp. L.). *Applied Sciences*, 11(4), 1615.

Wang, H. L. (2020). Characterization of microbial dynamics and volatile metabolome changes during fermentation of Chambourcin grapes in two Pennsylvania regions.

Wassermann, B., Korsten, L., & Berg, G. (2021). Plant health and sound vibration: Analyzing implications of the microbiome in grape wine leaves. *Pathogens*, 10(1), 63.

Weisskopf, L. (2013). The potential of bacterial volatiles for crop protection against phytopathogenic fungi. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*, 2, 1352-1363.

Wicaksono, W. A., Morauf, C., Müller, H., Abdelfattah, A., Donat, C., & Berg, G. (2023). The mature phyllosphere microbiome of grapevine is associated with resistance against *Plasmopara viticola*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1149307.

Xu, X., Miao, Y., Wang, H., Du, J., Wang, C., Shi, X., & Wang, B. (2022). Analysis of microbial community diversity on the epidermis of wine grapes in Manasi's vineyard, Xinjiang. *Foods*, 11(20), 3174.

Yao, M. (2023). Microbial diversity on grape surface and its research status. *Journal of Engineering Sciences*, (2), 158-172.

Zambianchi, S., Patrone, V., Becchi, P. P., Callegari, M. L., Stagnati, L., Lucini, L., ... & Busconi, M. (2023). Metagenomic bacterial diversity and metabolomics profiling of Buttafuoco wine production. *Food Control*, 148, 109657.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Hegyi Ádám Istvánnak a segítségét és támogatását a kutatás megvalósításához, és Dr. Hegyi-Kaló Júliának kutatásomhoz való jelentős hozzájárulását. Továbbá hálával tartozom az Élelmiszertudományi és Borászati Tudásközpont munkatársainak és dolgozóinak, hogy helyszínt- és eszközt biztosítottak a kutatáshoz, és szakmai segítséget nyújtottak munkám során.