

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem  
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet  
Élelmiszer-mikrobiológia, -higiéncia és -biztonság Tanszék



Különböző évjáratú aszúbogyók mikrobiótájának  
felmérése és jellemzése

Egyed Gyula

Budapest

2023

Szaktervezőben az Északkelet-Magyarországon elterülő, világörökség részévé nyilvánított Tokaji borvidék dűlőin fellelhető különböző évjáratú aszúszőlőfajták (furmint, hárslevelű, sárga muskotály, kövérszőlő, zengő és zéta) élesztő- és fonalgomba diverzitásának vizsgáltam.

Célom eléréséhez a korábbi évekből származó tanszéki törzsgyűjtemény bővítése érdekében a szüretet megelőzően aszúszemeket gyűjtöttem intakt szőlőfürtökről, melyekből eltérő morfológiai tulajdonságú fonalgombák (elsősorban *B. cinerea* törzsek) izolálását végeztem. Az izolátumokból, kiegészítve a tanszéki törzsgyűjtemény további élesztő- és fonalgomba törzseivel saját törzsgyűjteményt hoztam létre. Vizsgálataimba 11 élesztő, illetve 45 fonalgomba törzset, összesen 56 izolátumot vontam be.

Az élesztőgombákat YEPD és WL Nutrient tápagarokon tenyésztettem, majd morfológia tulajdonságaik alapján három csoportba soroltam. Az első csoportba citrom alakú, bilaterálisan sarjadzó sejtek alkották, a második csoport törzsei nagy méretű olajcseppszerű képletet tartalmazó sejtekből álltak, míg a harmadik csoportba mikroszkóposan vizsgálva ovális/körte alakú sejtekkel jellemezhető egyetlen törzs tartozott. A molekuláris vizsgálatok előtt a törzsekből DNS izolálásra volt szükség, melyet fenol-kloroformos eljárással végeztem. Az élesztők D1/D2 doménjének NL1-NL4 primerpárral történő amplifikációját követően a törzseket ARDRA analízisét végeztem *HaeIII* enzim használatával. A kapott eredmények alapján létrehozott csoportok összhangban voltak a morfológiai vizsgálatok csoportjaival. Csoportonként néhány, a csoport többi tagját reprezentatívan képviselő törzset kiválasztottam szekvenálásra, a kapott szekvenciaadatok alapján három fajt: *Hanseniopsis uvarum* (I. csoport), *Metschnikowia pulcherrima* (II. csoport), *Starmerella bacillaris* (III. csoport) tudtam elkülöníteni.

A fonalgombákat malátás tápagon tenyésztettem. Mivel a *B. cinerea* kimagasló szereppel bír a nemesrothadás jelenségének köszönhetően, ezen törzseket alaposabb morfológiai és molekuláris vizsgálatnak vettem alá. Morfológiáját tekintve a fiatal telepek fehér színűek, majd főleg szürke, de esetenként bézs színűek voltak. A micéliumok különböző tömörségű hálózatokat alakítottak ki, emellett szkleróciumképzésükre is nagymértékű változatosság volt jellemző. A *B. cinerea* mellett számos különböző morfológiájú fonalgomba morfológiai jegyeit is vizsgáltam, melyek az *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* és *Rhizopus* nemzetségekre jellemző tulajdonságokat mutattak.

A molekuláris vizsgálatok megkezdéséhez az élesztőkhöz hasonlóan, a fonalgombák esetében is DNS extrakcióra volt szükség, azonban a fenol-kloroformos módszerrel nem tudtam

elérni megfelelő tisztaságot és hozamot, így további nukleinsav izolálási módszerekkel próbálkoztam, melyek közül az üvegyöngyök használatával kiegészített nátrium-acetátos eljárás bizonyult legmegfelelőbbnek a statisztikai elemzés alapján, így ezzel a módszerrel folytattam a többi fonalagomba törzsnél a DNS kivonását. Fonalagombák esetében az ITS1/5,8S rDNS/ITS2 régiót amplifikáltam, majd ARDRA analízisüket *Hae*III mellett *Msp*I enzimmel kiegészülve is elvégeztem. Agaróz gélelektroforézissel futtatva az emésztett mintákat, változatos fragmenteket kaptam, közülük két *Alternaria* nemzetségbe tartozó törzs, két feltehetőleg *Rhizopus* nemzetségbe tartozó törzs és 26 *B. cinerea* törzsnél jelentkezett azonos mintázat. Az eltérő morfológiai és genetikai mintázatot mutató törzsek közül kiválasztottam párat szekvenálásra, majd a kapott adatok összevettem szekvenciaadatbázisok típus-törzseivel. Az eredmények alapján hét fonalagomba törzset a *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Penicillium glabrum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Acremonium sclerotigenum*, illetve a *Rhizopus arrhizus* fajba tudtam sorolni, azonban több esetben több fajra is hasonló megbízhatóságú találatot kaptam, így ezen törzsek esetében csak nemzetségszintű azonosításra (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* és *Fusarium* nemzetségek) volt elegendő.

Emellett a *Botrytis cinerea* törzsek fajon belüli genetikai variabilitását különböző RAPD primerekkel (OPE1, OPE19, OPE20, P5) vizsgáltam. Míg az OPE1 és OPE19 esetében kismértékű eltéréseket tapasztaltam, az OPE20 és P5 nagyfajú variabilis mintázatot adott. Tizenkilenc törzs 83%-os hasonlóság mellett két fő klaszterbe volt csoportosítható, két törzs kulcsoportot alkotott. 95%-os hasonlóság mellett a törzsek kilenc klasztert alakítottak ki. A klaszterek, a szőlőfajták és a mintavételi hely között nem találtam összefüggést.

Összességében elmondható, hogy a szőlőbogyók változatos élesztő- és fonalagomba diverzitást mutatnak, mely a borok minőségét befolyásolhatja. További vizsgálatok elvégzését javaslom a Tokaji borvidék szőlőinek minél több évjáratot és szőlőfajtát érintő mikrobióta feltérképezésére és analízisére (elsődlegesen különböző *Botrytis cinerea* törzsek tekintetében), arra keresve a választ, hogy mennyire befolyásolja mikrobióta, főként a *B. cinerea* törzsek genetikai diverzitása az aszúsodott bogyókból készülő borok minőségét.