

Varga Aliz Zsófia

DIPLOMAMUNKA

Varga Aliz Zsófia

2023

MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

NÖVÉNYVÉDELMI INTÉZET

BUDAPEST

Tokaj-Hegyaljáról származó *Botrytis cinerea* izolátumok molekuláris jellemzése

**Varga Aliz Zsófia**

Növényorvos mesterképzési szak

Készült a Növénykórtani Tanszéken

Közreműködő tanszék(ek): Szőlészeti és Borászati Intézet, Szőlészeti Tanszék

Tanszéki konzulens: Dr. Tóth Annamária

Konzulens(ek): Dr. Varga Zsuzsanna

Bírálok: \_\_\_\_\_

Budapest, 2023. április 30.

\_\_\_\_\_  
tanszékvezető/szakirányfelelős

\_\_\_\_\_  
konzulens

# Tartalom

1. Bevezetés .....	5
2. Célkitűzések.....	6
3. Irodalmi áttekintés .....	7
3.1. A szőlő ökológiai igénye, mikroklíma szerepe a szőlőtermesztésben .....	7
3.1.1. Fény.....	7
3.1.2. Hőmérséklet .....	8
3.1.3. Csapadék .....	9
3.1.4. Szél és levegő .....	10
3.2. Tokaj-Hegyalja szőlőtermesztésének sajátosságai .....	10
3.2.1. Éghajlat.....	11
3.2.2. Vulkáni eredet.....	12
3.2.3. Talaj.....	13
3.2.4. Vízirajz.....	14
3.3. <i>Botrytis</i> nemzetség.....	15
3.3.1. Biológiájuk és életmódjuk .....	15
3.4. <i>Botrytis cinerea</i> .....	16
3.4.1. Morfológia.....	16
3.4.2. Genetikai variabilitás.....	18
3.4.3. Hazai és külföldi populációs példák.....	19
3.4.4. Fehérjék és génfunkciók.....	22
3.4.5. Abiotikus tényezők hatása a kórokozóra .....	24
3.4.6. Nemesrothadás .....	25
4. Anyag és módszer .....	27
4.1. A vizsgálat helye és ideje .....	27
4.2. A vizsgálat anyaga .....	27
4.2.1. Vizsgált minták és területek.....	27
4.2.2. Alkalmazott táptalaj, enzimek és pufferek .....	27
4.2.3. Felhasznált eszközök és oldatok .....	28

4.3.	A vizsgálat módszere .....	29
4.3.1.	A fűtők gyűjtése és tárolása .....	29
4.3.2.	A kórokozó izolálása .....	29
4.3.3.	Molekuláris vizsgálatok .....	30
5.	Eredmények .....	31
5.1.	Morfológiai jellemzések .....	31
5.2.	Molekuláris vizsgálatok eredménye .....	32
5.2.1.	Azonosítás az ITS régió alapján .....	32
5.2.2.	Azonosítás a $\beta$ -tubulin gén részlete alapján .....	34
5.2.3.	Azonosítás a gliceraldehid-3-foszfát-dehidrogenáz enzim alapján .....	34
5.2.4.	Azonosítás az RNS-polimeráz II gén (RPB2) alapján .....	35
5.2.5.	Azonosítás az MS547-es gén alapján .....	35
6.	Következtetések .....	36
7.	Összefoglalás .....	37
8.	Köszönetnyilvánítás .....	39
9.	Irodalomjegyzék .....	40

## 1. Bevezetés

A mezőgazdasági tevékenységek közül a szőlőtermesztés, valamint a borászat egy külön álló ágazatként kezelendő. A szőlőnövény és a természeti adottságok kapcsolata kiemelkedő szerepet játszik a későbbiekben előállított élelmiszeripari termék – a bor – minőségének és érzékszervi jegyeinek alakulásában. Ezen értékeket a fogyasztók gyakran tudatosan keresik, így a termelő feladata, hogy saját tudása révén azonos színvonalú terméket állítson elő figyelembe véve az adottságokat. Ugyanakkor a környezeti elemek ezt nagy mértékben befolyásolják, gyakran egyedi karakterrel rendelkező terroirokat létrehozva, ahogyan kedvező vagy kedvezőtlen irányba eltolva az adott évjárat minőségét is.

A Magyarország észak-keleti részén lévő Tokaj–Hegyalja egyediségét és különlegességét számos kutatás, – legyen az természeti, biológiai vagy történelmi, – támasztja alá, amit a régióban élők mélyebben és átfogóbban érzékelnek. A terület szorosan kötődik a szőlőtermesztéshez, a borászathoz és az ebből következő mezőgazdasági tevékenységekhez. Több élelmiszeripari termék kiindulópontja a szőlő, de míg más hazai borvidékeken az úgynevezett ép, sérülésmentes és egészséges szemeket részesítik előnyben, addig a tokajiak azokat a különleges, betöppedt bogyókat, amelyek a nemesrothadás nevezetű biokémiai változáson esnek át. A sokrétű érési, valamint túlérési átalakulásokat beltartalmi módosulások is kiegészítik. A borkülönlegességek, – köztük a *Natúr Eszencia*, az *Aszú*, az édes és a száraz *Szamorodni*, a *Fordítás*, illetve a *Máslás*, korábban pedig az *Aszúeszencia*, – technológiai szükségletét eddigi ismereteink alapján a *Botrytis cinera* nevezetű, közismert kórokozónak köszönhetjük. A gomba csak kevés, speciális természeti adottságokkal rendelkező területen eredményez pozitív rothadást. Azon borvidékeken, ahol a számára csak részben ideális feltételek biztosítottak, ott a hétköznapi életben is ismert szürkerothadás néven találkozhatunk vele.

Témaválasztásomban nem csupán a szakmai kíváncsiság vezérelt, de a szőlőföldemhez és annak egyediségéhez való mély kötődésem is. A borvidéken munkálkodó borász családok megélhetésének egyik alapját a dolgozatomban több alkalommal is ismertetett pozitív rothadás jelenti, amely a világ viszonylataiban is ritka jelenségként írható le. Korábbi tanulmányaimnak, valamint családi háttérnek köszönhetően a bortermelői oldalról már megismerhettem a nemesrothadás folyamatát, így jelen vizsgálataink során szerettem volna a kórokozó szerepét előtérbe helyezni és annak jelentős szerepét is megfigyelni. Hazai és külföldi publikációk hatására megfogalmazódott bennem a kérdés, hogy vajon valóban a *Botrytis cinerea* gomba indukálja az elváltozásokat, vagy egy másik faj a fajkomplexen belül.

## 2. Célkitűzések

A *Botrytis cinerea* fajkomplex kutatásainak száma az elmúlt években egyre inkább előtérbe került, köszönhetően a kórokozó széles gazdanövénykörének. Azonban a borászatban, főként a Tokaji borvidéken jelentős nemesrothadást érintő kapcsolatát még nem vizsgálták, valamint annak a lehetőségét sem, hogy a fajkomplex mely tagja váltja ki az aszúsodásként ismert folyamatot. Ennek következtében a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Növényvédelmi Intézetében, továbbá a Növénykórtani Tanszéken alábbi célkitűzéseket fogalmaztuk meg:

- Fertőződött és részben nemesrothadásnak indult szőlőfürt minták gyűjtése
- Izolátumokból való tisztatenyészetek létrehozása és a tenyész bélyegek jellemzése
- Molekuláris vizsgálatok, a kórokozó(k) azonosítása az ITS régió és különböző gének alapján

### 3. Irodalmi áttekintés

#### 3.1. A szőlő ökológiai igénye, mikroklíma szerepe a szőlőtermesztésben

A szőlőnövénnyel alaptermészete mind a mai napig jelen van a bortermő szőlőben, vagyis a *Vitis vinifera* fajban. Ezt a szőlő folyamatos hajtásnövekedése, a magasba való törekvése és fény felé kúszása is alátámasztja (Decanter, 2009). Ennek megfékezésére, szabályozására alakultak ki a ma ismert fitotechnikai műveletek, amelyek a növényen fejtik ki hatásukat. Magát a növényt alapjaiban nem célunk megváltoztatni, inkább a meglévő tulajdonságait szeretnénk „kihasználni”, finomítani. A már kialakított ültetvényünk természetességének eredményességét a növényt körülvevő tényezők alakítják, köztük mi, termesztek is. Ezen befolyásoló elemek hatása eltérő, melyik–melyik jobban, illetve kevésbé fejt ki hatását. Ezeknek a környezeti faktoroknak az összességét nevezzük ökológiai tényezőknek (Bényei *et al.*, 1999). Az alapján, hogy az adott növény életfolyamataihoz mennyire van szükség egy adott komponensre, megkülönböztethetünk létfeltételeket, mint a víz, a széndioxid, a hő, a fény, az ásványi elemek; illetve nem létfeltételeket, mint a légnyomás vagy a szél. Az ökológiai tényezőket az alapján, hogy a növény milyen úton lép kapcsolatba az elemekkel. Beszélhetünk klimatikus tényezőkről, amelyek közé a fény, a hőmérséklet, a csapadék, a szél és a levegő tartozik; továbbá edafikus tényezőkről, amelyek az alapkőzetet, a talaj mechanikai összetételét, fizikai és kémiai tulajdonságait takarják. Ez a két csoport együttesen alkotja az abiotikus tényezők halmazát, vagyis az élettelen faktorokét. Emellett jelen vannak az úgynevezett biotikus, tehát "élő" tényezők is, mint az emberi beavatkozás, más növények és állatok hatásai is. A következőkben a legfontosabb hatóerőket elemezzük bővebben (Rakonczás, 2014).

##### 3.1.1. Fény

Alapjában véve, a szőlő egy fényt kedvelő növény, amelyre már Charles Darwin, az evolúciós elmélet egyik kidolgozója is rávilágított. Megfigyeléseiben lejegyezte, hogy otthon termesztett növényei meglepő módon az égbe törnek, hogy minél jobban elérjék a napfényt (Decanter, 2009). A szőlő más tekintetben is az egyik legkülönlegesebb kultúrnövény, hiszen folyamatosan a létfenntartásra összpontosít; vagyis "Igazi túlélő!" (Bodor P., szóbeli közlés). Ennek okán már a szórt fényt is meglehetősen jól hasznosítja, voltaképpen minden lehetőséget megragad önmaga fenntartásához.

Az asszimiláták, vagyis a növényben képződő fotoszintetikus termékek előállításának intenzitása nagy mértékben függ a levélfelület nagyságától és aktivitásától. A szőlő esetében elengedhetetlen a területre eső fiziológiai aktív fény, melynek közel 50%–át képes abszorbeálni a teljes ültetvény. Azt, hogy a használható fiziológiailag aktív fénynek mekkora részét képes hasznosítani a tőke, azt a fénykihasználási együttható mutatja meg. A szőlőt illetően ez az érték mintegy 5 %. A hatásfok növeléséért mi magunk is tehetünk, többek között a sorok tájolásával, a tőszám változtatásával, a lombfal magasságával és szögállásával, a fitotechnikai műveletekkel, vagy a megfelelő terület kiválasztásával. A siker kulcsa leginkább abban rejlik, hogy a növényt a lehető legnagyobb mértékben érje a napfény úgy, hogy az ne okozzon perzselési szövetelhalásokat a zöld felületeken. A sugárzás hatására a növényben kisebb átalakulások mennek végbe, ami többek között a rügyek

termékenységének javulásában is tettenérhető. Emellett azonban nem szabad megfeledkeznünk a növény legértékesebb részéről, a termésről sem. Ahhoz, hogy egy adott terméket előállíthassunk, a technológiai érettséget szükséges megcéloznunk, vagyis, ha egy édes fehér bort szeretnénk készíteni, akkor indokolt lejtésű területet szükséges választanunk, illetve a szüreti időpontokat kell megfelelően terveznünk (Lőrincz *et al.*, 2015). Ugyanis a jó megvilágítottságban, kívánt ideig fejlődő fürtök cukortartalma magasabb, mint az árnyékolt szintekben növekedett terméseké, hiszen: "A fürtnek látnia kell a napot!" (Csepregi P. szóbeli közlés).

### 3.1.2. Hőmérséklet

Az egyes szőlőfajok eredete eltérő régiókra esik. Vannak köztük melegkedvelő, fagyűrő és szubtrópusi körülményekhez szokott növények is. Az általunk hasznosított *Vitis vinifera* egy mezoterm növény, vagyis a mérsékelt égövet kedveli, így elterjedési területe mindkét félgömbön a 23,5° és a 66,5° szélességi fok közé esik (Rakonczás, 2014). A Föld hőmérséklete bizonyos helyeken azonos, így ezeket a pontokat egy vonallal összekötve úgynevezett izotermákat kapunk. A szabadföldi szőlőtermesztés 9–21°C fokos évi középhőmérsékletet igényel, a legjobb termés azonban a 10–16°C-os évi középhőmérsékletű izotermák között szüretelhető, amelyet az 1. ábra szemléltet. Hazánk–e tekintetben évi 11°C-os középhőmérsékletével versenyképes helyzetben van.



1. ábra: Szőlőtermesztésre alkalmas területek.

(Forrás: <http://winegourd.blogspot.com/2018/03/>)

A szőlő esetében elengedhetetlen a hőösszegek fogalma, illetve a biológiai 0°. Ez utóbbin azt a hőmérsékletet értjük, amely ahhoz szükséges, hogy a növény életfolyamatai meginduljanak, ez alatt általában a +10°C fokot értjük. Ezt az értéket figyelve kijelenthetjük, hogy április környékén indul meg a szőlő vegetációs időszaka. E periódus napi középhőmérsékleteinek összegét tekintjük az effektív vagy teljes hőösszegnek. Emellett megjelenik az aktív vagy hatásos hőösszeg, ami a biológiai 0°C fok napi középhőmérséklet feletti hőmérsékletek összegét foglalja magába. Mind a két hőösszeg fontos az egyes fajták esetében, hiszen ez beérésük feltétele. Ennek értékeit az 1. táblázat foglalja össze (Kozma, 2000).

1. táblázat: A szőlő fajták effektív és aktív hőösszeg igényei

(Forrás: <http://mek.oszk.hu/15400/15416/15416.pdf>)

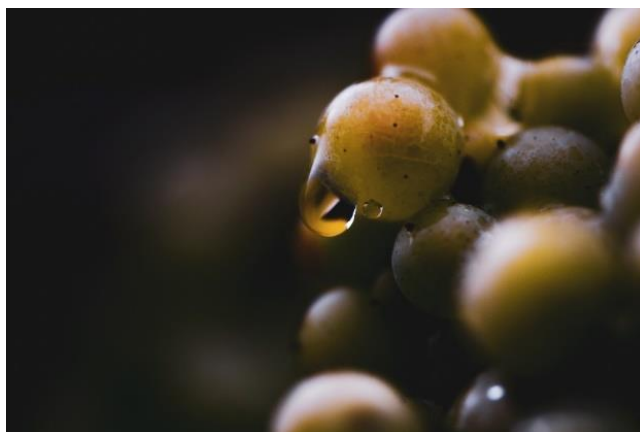


	Effektív hőösszeg	Aktív hőösszeg	Vegetációs napok száma
Igen korai érésű fajták:	2200–2400°C	680–850°C	110–120
Korai érésű fajták:	2400–2600°C	850–1150°C	120–130
Közepes érésű fajták:	2600–2800°C	1150–1350°C	130–145
Késői érésű fajták:	2800°C felett	1350°C felett	145 felett

A hőmérsékletingadozás pozitív és negatív hatást is kifejt az ültetvényekben. Éves szélsőségeket tekintve kiemelhető a perzselés és a fagyok jelensége. A túl magas hőmérséklet, amely már a 40°C-t is meghaladja káros a növényre, hiszen az UV sugárzással együtt égési foltokat okoz. Ekkor a zöld részek elvesztik nedvességtartalmukat, nem képesek tovább folytatni fotoszintetizáló tevékenységüket, majd előbb-utóbb elhalnak. Hasonlóan a rendkívül alacsony hőmérséklet is veszélyt jelent a tőkékre. A kora őszi fagyok a még megmaradt fiatal hajtásokat, leveleket és fürtöket veszik célba. Ezek ugyanis – 1–4°C-on megfagynak, ebből kifolyólag egy ilyen váratlan időjárási akadály súlyos kártételt okozhat a gazdának (Bényei *et al.*, 1999). Magyarország jelenlegi klímája lehetővé teszi a késő tavaszi, illetve téli fagykárokat. A tavaszi esetében a rügyekre kell figyelmet fektetnünk, ugyanis azok –3–4°C-on elfagynak, a zsenge hajtások 0°C fok alatt pedig károsodnak. Ezzel ellentétben a téli fagyok már az idős fás részeket is fenyegetik. Egyes fajták, fajok eltérően reagálnak, de általában 18°C alatt többségük elfagy és rügykárt szenved. Meglepő módon az ázsiai *Vitis amurensis* fagyűrőnek mondható, mivel akár a –21°C fokot is átvészeli. Az utóbbi években a szokatlan időjárás arra készítette a szőlősgazdákat hazánkban, és Európa más területein is, hogy új védekezési módokat vessenek be, az ültetvények megvédése érdekében (Lőrincz *et al.*, 2015).

### 3.1.3. Csapadék

Ahogy az korábban említésre került: a növény fotoszintéziséhez nélkülözhetetlen a víz. A szőlő nagy vízfelhasználású és közepes vízigényű növénynek tekinthető. Ez lényegében azt jelenti, hogy szélsőséges körülmények között, a szárazabb talajokból, illetve az alsóbb rétegekből is képes nagy mennyiségben vizet felvenni, mivel vízkereső gyökerekkel rendelkezik. Az egyes fajok és fajták vízigénye különböző lehet, attól függően, hogy mely területen asszimilálódtak. Hazánk éves csapadékmennyisége átlagosan 500–800 mm, amely jobb esetben elegendő a növény számára. Gyakran jelent azonban problémát, hogy a vegetációs időszakban eltérő mennyiségre van szüksége a növénynek, amelyet a természet nem mindig elégít ki. Ugyanakkor a csapadék időbeli eloszlása is gondot okozhat, legfőképp, ha a szüretre érett fejlődési állapot alatt hullik kiadós eső formájában, amely a 2. ábrán is megfigyelhető. Ennek negatív hatásaként a bogyó felrepedhet, amely másodlagos fertőződéseket vonhat maga után. Hazánk egyes borvidékei csapadékosabb időjárással rendelkeznek, illetve annak eloszlása is kielégítő a térségben, míg mások nem ilyen szerencsések (Rakonczás, 2014).



2. ábra: Esőcsapadék az érő szemén

(Forrás: Saját fotó).

### 3.1.4. Szél és levegő

A *Vitis vinifera* esetében kulcsfontosságú tényező a szél, hiszen megporzása annak útján történik, ezért az ökológiai tényezők között szólnunk kell a levegő mozgató eleméről is. Szélcsend esetén a virágzási időszakban gondok merülhetnek fel a kötődést illetően, amely a későbbi termésmennyiséget is befolyásolja. Hasonlóképpen ehhez a légmozgás hiánya negatívan hat a fertőzésekkel szemben, hiszen a túl magas páratartalom kedvez a gombás betegségeknek, köztük a *Botrytis cinereának*. Az országban egyedülálló módon Tokaj–Hegyalja esetében szükséges megemlítenünk a nemesrothadást, amelyet szintén ez a penészgomba okoz. A különbség a káros és jótékony rothadás között, a környezeti feltételekben rejlik. A hegyaljai régió számos olyan természeti adottsággal rendelkezik, amely kedvez az aszúsodásnak, míg másutt ezek hiányában – sajnos – kártételre kell számítanunk, ha észrevesszük a szürkerothadás jeleit. A szél mozgató munkásságának köszönhető, hogy kialakult az alföldi szőlőtermesztés, hiszen a területen található futóhomok deflációja (szél okozta eróziója) problémát jelentett a mindennapok során (Lőrincz *et al.*, 2015).

A minket körülvevő légtér összetételével és nedvességtartalmával is hat a növényzetre. Legnagyobb részét nitrogén teszi ki, ami nélkülözhetetlen makro-tápanyaga a növényeknek (bár közvetlenül nem felvehető számára), emellett pedig az aminosavak, fehérjék és enzimek alkotóeleme. Ezt követi az oxigén, mint növényi melléktermék, majd a széndioxid. Ez utóbbi a fotoszintézis egyik kiindulási anyaga, vagyis egy létfontosságú vegyület, amelyet légzésünk során mi emberek is folyamatosan kibocsátunk (Rakonczás, 2014).

## 3.2. Tokaj-Hegyalja szőlőtermesztésének sajátosságai

Magyarországon jelenleg 22 borvidék található, azon belül pedig 33 Oltalom Alatt Álló Eredetmegjelölés. A legészakibb borvidék a Zempléni-hegységen terül el, amely a Tokaj OEM-t viseli. A 2009. augusztus 1-től hatályba lépő rendelkezés lehetővé tette az önszabályozást a borvidékek számára. Ennek feltétele azonban a termékleírások benyújtása volt, amely alapján a bortermelők egységes termékeket állíthatnak elő. A termékleírásokban megtalálhatóak az adott borvidékeken engedélyezett fajták, a határolt területek, illetve a

termékek elvárt analitikai paraméterei is. A termékleírásában foglaltak alapján, a Tokaji borvidék területei alá a következők tartoznak: "Abaújszántó, Bekecs, Bodrogkeresztúr, Bodrogkísfalud, Bodrogolaszi, Erdőbénye, Erdőhorvát, Golop, Herceggút, Legyesbénye, Makkoshotyka, Mád, Mezőzombor, Monok, Olaszliszka, Rátka, Sáradsadány, Sárospatak, Sátoraljaújhely, Szegi, Szegilong, Szerencs, Tarcal, Tállya, Tokaj, Tolcsva, Vámosújfalú településeknek a szőlő termőhelyi kataszter szerint I. és II. osztályú határrészei" (A Tokaj oltalom alatt álló eredetmegjelölés termékleírása, 2017). Azon termőterületek, amelyek a felsoroltak közé tartoznak, a követelményeknek eleget téve viselhetik a Tokaj, illetve Tokaji nevet. Más borvidékekkel ellentétben, a Tokaj–Hegyaljáról kikerülő termékek viszonylag kevés szőlőfajtából állíthatók elő. Ezek közé tartozik a Furmint, a Hárslevelű, a Sárgamuskotály, a Kövérszőlő, a Kabar és a Zéta. Természetesen ettől eltérő fajták is megtalálhatóak a térségben, de ezek száma alacsony, illetve ezek nem kerülhetnek földrajzi eredetmegjelölésű helyi termékbe (Lőrincz *et al.*, 2015).

A borvidékek gyakran települések után kapták nevüket. Ez annak köszönhető, hogy egyes városok központi szerepet tölthettek be az adott térség életében. Így alakult ki a Pannonhalmi, Móri vagy akár a Tokaji borvidék is. Hegyalja esetében a kapcsolat a kereskedőkhöz kötődik, ugyanis Tokaj már a középkor késői szakaszában egy kereskedelmi centrumként funkcionáló település volt az ország észak–keleti csücskében. Erről tanúskodik egy, az 1067-es évben jegyzett iromány, amely privilégiumként először számolt be a helységről. Ezt követően pedig Anonymus 1267-ben kelt oklevele emlékezik meg e tájról, melyben még *Himösudvarként* nevezi meg a lakott területet. A település mai elnevezése és annak különböző változatai feltételezhetően a 13. század második felétől kezdődően jelennek meg, mint *Tokoy*, *Thokoy*, *Twekey*, *Thokay* alakban. A „*Tokaj*” változatot egy 1353-ra datált dokumentumban fedezhetjük fel, amely azóta is használatos és világszinten ismert. Hegyalja történelme nem csupán a szőlőhöz és borhoz köthető, azonban fontossága leginkább abban rejlik, hogy mind országunk, mind a világ távlataiban úttörőnek mondható a zárt borvidékek körében. Manapság a térség neve hallatán a legtöbben nem meglepő módon a szőlőre, a borra és a borászati termékekre asszociálnak. Azonban azt nem szabad elfelejtenünk, hogy a terület nem pusztán az emberi tevékenységek eredményeiről, de annál inkább és ahhoz kapcsolódóan természeti kincseiről is híres. Az ország legnevesebb borvidéke egyediségét mind történelmének, mind elhelyezkedésének köszönheti. Magyarországot, mint páncél veszi körül a Kárpátok, az Alpok és a Dinári-hegység koszorúja, így alakítva ki egy védett medencét. Ennek köszönhetően hazánk egyedi ökológiai adottságokkal rendelkezik, köztük Tokaj–Hegyalja is. A neves régió országunk észak–keleti szegletében fekszik, a Zempléni-hegység vonulatain. A terület gazdag tájképi adottságainak köszönhetően, az Aggteleki Nemzeti Park fennhatósága alá tartozik, egységei között a Tokaj–Bodrogzugi Tájvédelmi Körzet és a Zempléni Tájvédelmi Körzet is megemlíthető. A hegyvonulat a természetes határvonalak mentén úgynevezett közép- és kistájakra bontható fel, amelyek a központként ismert településeket övezik.

### 3.2.1. Éghajlat

Folyamatosan változó világunk rengeteg meglepetést tartogat a számunkra, amely sok esetben – sajnos – a klímaváltozás rovására írható. Az éghajlat, mint az időjárás általános jellege egy adott területre

vonatkoztatható. Egy térség klímáját olyan befolyásoló tényezők alakítják, mint a „napsugárzásból származó hőenergia, a felszín anyagi összetétele, a domborzat és tengerszint feletti magasság, továbbá az általános földi légköri körzés, valamint a tengeráramlások hő- és vízgőzszállítása” (OMSZ).

A fentiek alapján Tokaj–Hegyalja a mérsékelt meleg–száraz, illetve a mérsékelt hűvös–száraz éghajlati övben helyezkedik el. Ennek köszönhető, hogy a nyarak melegek és szárazak, míg a telek hidegek és csapadékosak. Általánosságban véve az északabbra lévő területek klímája mérsékelt nedvesbe torkollik, így hozzájárulva a magas páratartalom–szinthez. Ez a jelenség az egyik oka annak, hogy az aszúsodáshoz szükséges nemesrothadás végbe mehet. A meglévő klíma hatással van a területre hulló csapadék mennyiségére, a napsütéses órák számára, továbbá a hőmérsékletre. Éves viszonylatban a lehullott csapadék eső, hó és többször jég formájában éri a földfelszínt vagy a levézetet. A területre átlagosan 600–650 mm mennyiség hullik, melynek 50–60%–a a szőlő vegetációs időszakában kerül kapcsolatba a növényvel (Lőrincz *et al.*, 2015). A fakadás utáni időszakban bekövetkező bő esőzés ekkor még pozitívumként értékelhető, azonban a szüretet megelőző hetekben a bogyók túlzott megduzzadását és felrepedését segítik elő, maga után vonva a fertőzéseket. E tekintetben a szőlősgazda és ültetője az időjárásal folytat küzdelmet, hol szárazság, hol "özönvíz" formájában. Az ültetvények talaját tekintve gyakran jelent problémát a túlzott esőzés, ugyanis ez talajerózióhoz vezethet. Az ismétlődő csapadékos napoknak a számlájára írható a talaj- és az ásványianyag-kimosódás, amely mind a növények fejlődési folyamatait, mind az agro- és fitotechnikai műveletek elvégzését megnehezíti. Azokban a parcellákban, ahol nincs kiépített útvonal, pusztán az tőkék megközelítése is bonyodalmakat okoz. Az ilyen időszakok után igazi felüdülést jelentenek a száraz, napsütéses napok, amikor a lehullott csapadék egy része párolgás útján visszakerül a légtérbe (Luda és Váradi, 2016).

A napfénytartam azt az időintervallumot mutatja, amíg a napsugárzás közvetlenül éri a földfelszínt. A Tokaj–Hegyalján mért adatok alapján a borvidéken 1850–1900 a napsütéses órák száma. Az ország egyik leghidegebb vidéke a Zempléni hegység, amely évi középhőmérséklete kiegyensúlyozottnak mondható, hiszen éves átlaga 9–10°C között mozog. Ez azonban lehetővé teszi, hogy az egyes régiói eltérő adottságokkal rendelkezzenek, mint például a hűvösebb Hegyköz, vagy a melegebb Bodroghöz (Lőrincz *et al.*, 2015).

Nem véletlen, hogy a neves borvidéken belül is vannak első osztályú, illetve kevésbé kiváló dűlők. Tudniillik ez a metszévonal a domborzati feltételek, valamint a hő és fényviszonyok mellett igen befolyásolja a lejtők mikroklímáját. Bizonyára ennek a jelenségnek a tudatában kezdték elődeink magát a borvidéket is Hegyaljaként emlegetni, hiszen ahogyan a termőhelyi kataszter is alátámasztja, a szőlőtermesztésre legalkalmasabb területek a déli, délnyugati és délkeleti hegyoldalak (Luda és Váradi, 2016).

### **3.2.2. Vulkáni eredet**

A borvidék bemutatásakor gyakran elsőként a vulkanikus eredetet említik meg. Ez annak köszönhető, hogy a Zempléni-hegység az Észak–magyarországi–középhegység utolsó tagja. Ez a vonulat egy fiatal vulkanikus képződmény, ezért mondható egyéninek. Formáját tekintve voltaképpen egy háromszög, amelyet három nagy hegy, köztük a sátoraljaújhegyi Sátor-hegy, az abaújszántói Sátor-hegy, valamint a tokaji Nagy–

Kopasz jelöl ki (Botos, 2016). A vulkanikus képződmények fő tömegének kialakulása a középső miocénre tehető, vagyis a 15–16 millió évvel ezelőtti időszakra; míg végső kitörései a pliocén korszakra, azaz 9–10 millió évre datálhatóak. Ennek ellenére találtak olyan kőzeteleleteket, amelyek az ókor, illetve a középkor időszakból származnak, főként Vilyvitány és Sárospatak térségében (Kenderes, 2018.) A hegységrendszer tagoltsága aszimmetrikus, hiszen egyaránt találkozhatunk magas hegyekkel, illetve kisebb emelkedőkkel is. Legmagasabb pontja a Nagy–Milic névre hallgat, a maga 896 méterével. A Tokajban található Nagy–Kopasz azonban csupán alig haladja meg az 500 méteres magasságot (Druzsinszki, 2020). Ez a tagoltság a bizonyíték arra, hogy a vulkáni tevékenység mind időben, mind térben kiterjedt volt. A borvidék alapját idős kőzetek alkotják, amelyek még a felszínen maradvány erózió estek át. Ezeket beleértve jött létre egy új rétegződés, amelyet a fiatalabb, de szintén vulkanikus módon létrejött képződmények temettek be, közel 14–15 millió évvel ezelőtt. Köztük riolit és riodácit tufák. Többségük elfedésbe került, de sok helyen is észlelhetőek. Ahogyan a terület alább ereszkedett, az úgynevezett Pannon tenger a ma hegyvidékként ismert régiót is elborította, majd agyagos, sovány hordalékát és üledékét lerakta itt. Az idő előrehaladtával hasonló vulkanikus folyamatok indultak el, csak ekkor nem a felszínen, hanem a tenger alatt (Alkonyi, 2004). A vulkanikus aktivitásnak köszönhetően a hegységek központi részeiben kiömlési kőzetek, riolit, dácit, andezit található, míg a peremterületeken vulkanikus porok és tufák vannak túlnyomó többségben (Luda és Váradi, 2016).

### 3.2.3. Talaj

A talajképző kőzetek jóvoltából a borvidék igen változatos talajokkal rendelkezik. Ehhez természetesen a domborzat, valamint az eróziós folyamatok is hozzájárulnak. A hegyvidékek erdővel borított területein a legelterjedtebb talaj az agyagos nyiroktalaj vagy az agyagbemosódásos erdőtalaj. Ezek a vulkanikus kőzetek málladékból alakultak ki évmilliók alatt és vörösre színeződtek. Ezt a tulajdonságot a bennük lévő vas–hidroxidnak köszönhetik, így adva nekik egy földöntúli küllemet (Alkonyi, 2004). Ennek ellenére, hogy a csapadék nehézkesen jut be az alsóbb rétegekbe, tápanyagtartalma kedvező, így a Sátoraljaújhelyhez hasonló területek korábban előszeretettel hasznosították ezeket a hegyoldalakat szőlőtelepítésre. Hegyalja egyik nevezetessége a löszös talaj, amely csupán a felszínen található, akár egészen magasán (Alkonyi, 2004). A homokból és porból keletkező, sárga törmelékes–üledékes kőzet, amely keletkezése a würm jégkorszakhoz köthető. A málló kőzeten való szőlőtermesztés sajátos színt ad az itteni bortermelésnek, amely leginkább Tokaj és Tarcfal környékén figyelhető meg (Lőrincz *et al.*, 2015). Maga a lösz egy kifejezetten jó vízáteresztő, de alacsony mésztartalmú talaj (Alkonyi, 2004). A Bodrog és a Tisza közelében, főként az alföldi területeken inkább réti talajok és öntéstalajok figyelhetőek meg. (Lőrincz *et al.*, 2015). Gyakran találkozhatunk úgynevezett kőporral, amely egy kevésbé kötött, rossz víztároló talaj. Keletkezése az átkovárodott kőzetekhez és a horzsakőhöz köthető, azok fizikai eróziójához. Negatív tulajdonsága, hogy a növényzet feltételezhetően gyakrabban pusztul ki benne az elszáradás vagy épp a fagyás következtében, mert a talaj hamar átveszi a környezet hőmérsékletét és meg is tartja (Alkonyi, 2004).

### 3.2.4. Vízrajz

Tokaj–Hegyalja kivételes adottságainak kialakításához a vízrajz is hozzájárul. A területet három jelentős folyó határolja, név szerint: nyugaton a Hernád, keleten a Bodrog és Tokajnál a Tisza. A nagyobb folyók mellett rengeteg patak és ér szeli át a borvidéket, egy hálózatot létrehozva. Ide sorolhatnánk a Bózsva–, Ronyva–, Hercegekúti–, Hotyka–, a Bényei–, a Tolcsva–, a Szerencs–, az Aranyos–, illetve a Mádi–patakat, hogy csak a fontosabbakat említsük. Ezen folyamok vízszintje eltérő az év egy–egy időszakát tekintve, hiszen a tavasszal az északról szállított hó és jég olvadása után megemelkednek. A csapadék mellett a vízrajznak köszönhetően magas páratartalom jellemzi a területet, amely kedvez a nemesrothadásnak. Ez a meghatározó jelenség a 3. ábrán figyelhető meg. Emellett a természetes tükör funkcióját is ellátják, ugyanis a nagy vízfelületek visszaverik a napfényt, az így érkező szórt sugárzást pedig a szőlő hasznosítja. A Zempléni–hegység sajátossága, hogy helyenként meleg víző források is megtalálhatóak. A mélyebb kőzetekből feltörő hévizek nem csupán turisztikai attrakcióként bírnak jelentős szereppel. Az efféle felszínre törő vízfolyások mélyebb, már máló rétegekből származó nyomelemek és különböző ásványianyagok nagy mennyiségét hozták a felszínre, amellyel annak kőzeteit tették gazdagabbá. A hegységrendszer különböző pontjain fémek, köztük alkálifémek oxidjai és hidroxidja, vas és alumínium is kioldódott és a talajfelszínre jutottak (Alkonyi, 2004). Az emberi tevékenységből fakadóan találkozhatunk vulkanikus kőzetekkel és rétegződéseikkel, főként hátrahagyott bányatavak és bányatelepek helyén. Sárospatak térségében a vulkanikus kőzetek keménységét kihasználva kezdtek malomkögyártásba. Ennek a bányának a helyén található ma a Megyerhegyi–Tengerszem, amely egy, a bányászati tevékenység után visszamaradt mélyedésben keletkezett tó. Hozzá hasonlóan mesterséges munkálatoknak köszönhetően jött létre Tarcalon a bazaltbánya tó is, amely azóta színes élővilágnak nyújt otthont a szőlősorokhoz közel (Luda és Váradi, 2016).



3. ábra: Felszálló pára az ártéri területeken

(Forrás: <https://disznokoblog.hu/10-dolog-ami-egyedulalova-teszi-az-aszut/>)

### 3.3. *Botrytis* nemzetség

A *Botrytis* kifejezés a hétköznapi életben leginkább a szőlőtermesztéssel vagy a borászattal hozható párhuzamba. Eredetét tekintve a korai görög nyelvben ismeretes "szőlőcsokorral" (Liddell és Scott, 1996) vagy a Szemita és Héber változatban "éretlen szőlővel" azonosíthatjuk. A források bár arra utalnak, hogy elsőként szőlőfajokon találkozott vele az emberiség, mégis a szó egy olyan gomba nemzetségét jelöl, amelyek nem csupán az említett növényt érintik, így a különböző természetű kultúrák növényvédelmével foglalkozók számára szintén közismert. Kifejezetten változatos és sok fajt magába foglaló csoportról van szó, melyben a tagok biológiájukat, ökológiájukat, morfológiájukat és az előnyben részesített gazdakörüket tekintve térnek el egymástól. A gazdaságilag is jelentős kórokozók egyaránt okozhatnak és okoznak súlyos veszteségeket kertészeti állományokban, virágos növényekben, valamint nem egy közülük speciális gazdanövény együttessel rendelkezik (Fillinger és Elad, 2016).

#### 3.3.1. Biológiájuk és életmódjuk

A *Botrytis* fajok a konídiumos vagy korábbi nevükön mitospórás gombák közé tartoznak. Többségük esetében az általuk kiváltott általános tünet a hamuszürke színű konídiumtartó gyepek, amely gyakorta tűnik fel szabadföldeken, gyümölcsösökben és üvegházakban egyaránt, rövid, illetve hosszabb életű ültetvénylétesítésekben, amelyet szőlő esetében az 4. ábra szemléltet. Sikerük egyik alapját a környezeti feltételek közül a szokásosnál magasabb páratartalom jelenti, ugyanis levegőben való terjedésük a közegben eloszlott, – ivartalan szaporítóképletekkel, – konídiumokkal valósul meg. A nemzetségbe tartozó fajokat korábban kizárólagosan nekrotróf szervezeteknek vélték. Ezen gombák elsősorban azon munkálkodnak, hogy a megtámadott szervezetet parazitálják, annak sejtjeit, szöveteit elpusztítsák, majd felélik a számukra fontos, felszabadult alkotókat (Vági *et al.*, 2013). Mára azonban több kutatás is alátámasztotta, hogy nem egy közülük endofiton életmódot folytat, azaz életük egy bizonyos szakaszát a növényi szöveteken belül töltik kolóniákat alkotva, számukra nem látható tünetek, tünetegyüttesek indukálása nélkül. Mindazonáltal vizsgálatuk és kimutatásuk azért jelentős, mert a megtámadott növény későbbi életszakaszában a tünetek megjelenhetnek, valamint a szaporítóanyaggal és az eladásra kínált vetőmaggal szintén terjeszthető (De Cal *et al.*, 2020).



4. ábra: *Botrytis cinerea* konídiumtartói szőlőszemen

(Forrás: Saját kép)

A nemzetségen belül a *B. cinerea* faj több, mint 500 növényfajnál okoz elhalásokat. Ezt leginkább a friss gyümölcsökön és zöldségeken figyelhetjük meg, és ha mindezt számszerűsíteni szeretnénk, akkor éves szinten akár elérheti a 100 milliárd dolláros gazdasági veszteséget is a kártétel. Nem csupán a termést, de lényegében bármely növényi részt megtámadja a kórokozó – beleértve a virágot, a levelet, a magot –, akár a betakarítás előtt vagy után. Gazdanövénytől, környezettől és évtől függően a szüretet megelőzően nyilvánvaló tüneteket válthat ki vagy egészen a betakarításig nyugalomban marad. Köszönhetően jelentőségének a növényvédelem egyik kulcsfontosságú kérdésköre. A folyamatos fejtörést és a hatóanyagokkal kapcsolatos kutatások alapját a *B. cinerea* változékonny genomja adja, valamint a gyógyszerrezisztenciára való hajlama. Emellett természetesen elsőszámú szempont a humánegészségügy, így a szürkerothadás elleni szerek elkerülése mindennapos témává nőtte ki magát. Molekuláris mechanizmusainak feltárása, ismert genominformációi, illetve a patogenezishez kapcsolódó fehérjék funkciójának ismerete mind–mind elősegíti ezen erőfeszítéseket (Hua *et al.*, 2018).

### **3.4. *Botrytis cinerea***

#### **3.4.1. Morfológia**

A *Botrytis cinerea* hífái álharántfallal tagoltak, endofita, azaz belső elhelyezkedésűek. A *B. cinerea* esetében szükséges, hogy a vegetatív inkompatibilitás fogalmát tisztázzuk. A folyamatot, amely során a hifák összeolvadva micéliumot képeznek anasztomózisként ismerjük. Ez a természetben lezajló fúzió létrejöhet egy adott egyeden belül vagy a faj több törzse között is. Amennyiben az utóbbi lehetőség megy végbe, úgy a következménye, hogy heterokarion állapot alakul ki. Ezt a különböző eredetű sejtmagok közös citoplazmába való bekerülésének tudhatjuk be. Az így kialakult diploid állapot kedvező tulajdonságokat, túlélési stratégiákat teremt a gomba számára, beleértve a recesszív allélek háttérbe szorítását vagy a saját környezetében jelenlévő negatív hatásokhoz való alkalmazkodó képességet. Az ivartalanul szaporodó gombák – köztük a *Botrytis cinerea* – tekintetében a paraszexuális szaporodási mód a terjedési mechanizmus egyik forrása. Az eltérő egyedekből származó gének meiózis és zigóta megtermékenyülés nélküli rekombinációja a genetikai polimorfizmust teszi lehetővé. Azonban a vizsgált gombafajon belül ezen kedvező tulajdonságok kialakulásának egy genetikai rendszer, maga a vegetatív inkompatibilitás szab gátat (Oláh, 2006).

Az egész világon előforduló patogén életciklusa több szakaszra bontható. Szerkezetük és felépítésük látványos. Hifájuk a már említett módon álharántfalas, konídiumaik a faág szerűen elágazó tartók kiszélesedő végén fűződnek le. Egy-egy konídiumban három–hat sejtmag figyelhető meg. Az általuk termelt legkisebb konídium haploid, méretükből adódóan mikrokonídiumként tartjuk őket számon. Ezen – többségében csírázásra képtelen – képletek sok esetben funkcionálnak hím ivarsejtekként az ivaros folyamatok során. A diploid sejtet a fiatal aszkusz tartalmazza, amely számfelező sejtosztódáson megy keresztül, azaz meiózison. Ennek következtében négy haploid utódsejt jön létre. A továbbiakban az említett tetradok számtartó osztódás eredményeként nyolc magot képeznek. A mitózis során létrehozott magokat minden egyes aszkuszban nyolc aszkospóra veszi körül, ugyanakkor az érett aszkospórákban javarészt négy magot figyelhetünk meg. Korábbi



vizsgálatok alapján, – habár nem egyöntetűen, – de elmondható, hogy a gomba életében az ivaros szaporodási folyamat kevésbé bír akkora jelentőséggel a terjedését illetően a természetes környezetben. Erre, ha nem is bizonyítékként, de egyfajta megerősítésként utalhat az apotécium hiánya is, amelyben ivaros úton aszkuszkokat és aszkospórákat hoz létre a kórokozó. Mindazonáltal számos tény támasztja alá a populációkban megfigyelhető meiotikus rekombináció jelenségét, köztük az izolátumok közötti tág variabilitás, valamint a haplotípusok és az ivartalan kompatibilitási csoportok magas száma (Fillinger és Elad, 2016).

A *B. cinerea* törzsek jelentős morfológiai különbséget és variabilitást mutatnak, tekintve a micélium növekedését, a konídiumok képzését és a szkleróciumok képzésének eltérést is. Hatalmas gazdanövényköre és fenotípusos variabilitása révén a kutatók arra következtettek, hogy a változékonyság, a különböző gazdaszervezetekhez való adaptáció és az újabb törzsek kialakulása összhangban van egymással. A genetikai vizsgálatok alátámasztották, hogy az eltérő gazdanövényekből származó kórokozó esetében fajon belüli klaszterek alakultak ki (Plesken *et al.*, 2021).

Ennek következtében gazdaspecializációt ismertek fel, attól függően, hogy mely növényről és hol mintavételezték a gombát. A *B. cinerea* populációszerkezetének különbségét mutatták ki gazdanövényenként vagy akár évekre lebontva. Ehhez kapcsolódóan igazolták, hogy akár kontinens szinten is jelen van a magas diverzitás és a populáció szerkezetének változékonysága, melyek megerősítésére molekuláris markereket alkalmaztak. Ugyanakkor régió szinten későbbi kutatások során kisebb eltérést figyeltek meg vagy annak teljes hiányát (Naegele *et al.*, 2021).

A szürkerothadást okozó gomba morfológiájának eltérését a kivi gyümölcs esetében is analizálták, különböző területekre lebontva a kutatást Kínában. Egy hektáron belül tizenöt minta vételezésére került sor nyolcvan különböző ültetvényben. A felvételezés során fertőzött leveleket, virágokat gyűjtöttek, amelyeket mesterséges klímadobozban tároltak. A megfelelő környezeti feltételek biztosításához 90-95%-os relatív páratartalmat biztosítottak. A mintákat három napon keresztül 20°C-on, sötétben tárolták, hogy hozzájáruljanak a *B. cinerea* konídiumainak képződéséhez és a termőtestek kialakulásához. Ezt követően mikroszkopikus vizsgálatoknak vetették alá a mintákat a morfológiai jellemzők dokumentálása érdekében. A további megfigyelésekhez a kórokozókat tenyésztették, melyekhez minden mintából egy spórást tenyésztetett hoztak létre. A tenyészteteket 1%-os Potato Dextrose Agar (PDA) táptalajon inkubálták 20°C-on. Az inkubálási idő hét nap volt, majd háromszor ismételték meg a folyamatot és hoztak létre tisztatenyészteteket. A telepek eleinte fehér, bolyhos légmicéliumot képeztek, majd idővel azok szürkévé váltak. A konídiumok képződése hét napos inkubáció után történt meg a micéliumon, majd további tizennégy nap elteltével fekete szkleróciumokat hoztak létre. Ezeket a kutatók mikroszkóp segítségével megmérték és mintánként feljegyezték. Átlagosan 3,4 x 2,3 mm méretű képleteket alkottak. A konídiumtartó többszörösen elágazó, egyenes, egyesével vagy csoportokban képződik, tetejük barna színű, hosszuk átlagosan 721 x 12 µm volt. Az egysejtű konídiumok színe az áttetszőtől egészen a világosbarnáig terjedt, formájuk elliptikustól a tojásdad alakig. Méretük átlagosan 8,15 x 5,77 µm volt. Az izolátumok telepeinek ismertetőjegyei nyilvánvaló különbségeket igazoltak a PDA táptalajon. Az eltérések alapján három kolóniatípusra osztották fel a mintákat. A képződött képletek szerint megkülönböztettek

szklerócium, konídium és micélium típusú telepeket. Az első típusú telepek sok szkleróciumot fejlettségük, viszont kevés hifát, és csekély számban vagy egyáltalán nem termeltek konídiumokat. A konídium típusok bőven termeltek konídiumokat, de kis mértékben vagy egyáltalán nem termeltek szkleróciumot. A micélium típusú izolátumok vastag telepein nagymértékben jelent meg légmécélium, viszont minimális mértékben figyeltek meg konídiumokat vagy szkleróciumokat is. Azonban voltak olyan minták is, ahol ez utóbbiak nem fejlődtek ki. A leggyakoribb a szklerócium típus volt, a legritkább pedig a konídium típus. Az eltérések ellenére mind a három típust megtalálták mindegyik mintavételi ponton (Pei *et al.*, 2019).

### 3.4.2. Genetikai variabilitás

A *B. cinerea* nem csupán egy változatos megjelenésű faj, de a genotípust érintően is nagy változékonyságot mutat. Ebből adódóan a kutatók már igen korán javasolták két, egymástól elkülönülő genetikai csoport kialakítását a transzponálható elemek alapján. Az úgynevezett "ugráló gének" megléte, avagy hiánya tette lehetővé a transzpozontípusok leírását a populáción belül. A két fő elem, – a *Boty* és a *Flipper*, – teljes hiányában a minták a *Vacuma* csoportba kerültek; ennek szöges ellentétét a *Transposa* csoport izolátumai jelentették, mind a két gén megléte okán. Azon tenyészetek, ahol kizárólag *Boty* elemekkel találkoztak a *Boty* csoportba kerültek, a csak *Flipper* transzpozont tartalmazókat pedig *Flippernek* keresztelték (Sándor *et al.*, 2005).

További vizsgálatok mintájára a *Vacuma*-t egy különálló kategóriába sorolták (I. csoport), míg a másik három közösen alkotott egyet (II. csoport) (Fillinger és Elad, 2016). Azonban a csoportok közötti különbség nem csak morfológia, fenotípus és gazdanövény szerint volt érzékelhető (Fekete *et al.*, 2011). A filogenetikai és polimeráz-láncreakciós vizsgálatoknak köszönhetően a transzponálható elemeken alapuló osztályozás a továbbiakban nem volt helytálló. Ennek oka, hogy az I. csoportban is jelen van néhány ugráló gén, bár ennek gyakorisága alacsony (Fillinger és Elad, 2016), ahogyan a genetikai diverzitás is (Fekete *et al.*, 2011). Az eredmények arra engedtek következtetni, hogy az egyes csoportokon belül jelen van rögzült polimorfizmus, ugyanakkor a közös polimorfizmus hiányzik. Ez a jelenség az eltérés ősi eredetére utal és a gének áramlásának teljes hiányára a két mesterségesen kialakított kategória klasszis között. Fourniernek, valamint munkatársainak (2005) köszönhetően a *B. cinerea* két csoportját filogenetikai fajokra osztották fel. Ennek oka az volt, hogy a több génszekvenciából meghatározott genetikai differenciálódás a korábban leírt típusok egyikével sem egyezett. Ez alapján az I. csoport kivált, megalkotva a *Botrytis pseudocinerea* fajt, míg egyes irodalmak a II. csoportra *B. cinerea sensu stricto* néven hivatkoznak (Fekete *et al.*, 2011).

A kutatások alapján egyértelműen azonosították az I. és II. csoportba tartozó törzseket. Ezek a *Botrytis* filogenetika I. kládján belül eltérő fajokhoz tartoznak. Ugyanakkor a vizsgálatok azt is kimutatták, a *B. cinerea* rokonai szempontból közelebb állt a *B. fabae*-hoz, mint a *B. pseudocinerea*-hoz. A genetikai információknak köszönhetően arra is fény derült, hogy a két faj különválása hét és tizennyolc millió évvel ezelőtti időintervallumra tehető a múltban visszamenőleg. Ennek eredményeként, hogy a *B. pseudocinerea*-t egészen a közelmúltig csak az európai kontinensen mutatták ki, a kutatók úgy vélték, hogy a faj a világnak ezen részéről

eredeztethető. Ezt az állítást azonban megcáfolta, hogy Chilében, Új-Zélandon, Dél-Afrikában, továbbá Közép-Kínában és Észak-Amerikában is leírták nemrégiben. A megfigyelések arra engedtek következtetni, hogy az emberi tevékenység szerepet játszik a faj vándorlásában és terjesztésében. A *B. cinerea* és a *B. pseudocinerea* morfológiailag azonosnak mondhatóak, de egymással való szaporodásuk nem lehetséges, amely két lehetőségként jelenik meg. Steril utód alakul ki, vagy egyáltalán nem jön létre utód. Ez a jellemző pedig a prezigótikus izoláción alapuló szaporodási akadály lehetséges meglétére utalhat (Fillinger és Elad, 2016).

A *B. pseudocinerea* gyakorta fordul elő együttesen a *B. cinerea*-val, a szőlő- és szamóca ültetvényekben. Emellett számos más növényfajt is képes megfertőzni, valamint időnként domináns szürkepenész kórokozóként is felüti a fejt a repce-, alma-, cseresznye- és lóbab ültetvényben is. A *B. cinerea* tág gazdanövényköre és fenotípusos variabilitása összhangban van a genetikai változékonysággal, vagy legalábbis a faj bizonyos fokú gazdanövényekhez való adaptációjával. Populációgenetikai vizsgálatok bizonyították, hogy az eltérő gazdanövényekről származó *B. cinerea* populációkon belül klaszterek figyelhetők meg. Bennük a géncsere ugyan mérsékelt, azonban továbbra is jelen van. A *B. cinerea* törzsek mintavétele különböző években begyűjtött, eltérő területről és országból származó, változó gazdanövényekről történt. Genetikailag tiszta izolátumokat alkalmaztak tenyésztésre, majd feljegyezték azok növekedését és fejlődését. A genetikai analízis polimeráz-láncreakcióval zajlott, majd gén-adatbázist használtak a gének azonosításához. Ez utóbbi folyamathoz kifejezetten olyan géneket választottak, amelyeket korábban már más kutatások felhasználtak, mint a *B. pseudocinerea* és *B. cinerea* megkülönböztetésére és a *B. cinerea* törzsek közötti eltérések azonosítására való nukleinsav-szakaszok. A kísérletekhez nagymértékben hozzájárult a *B. cinerea* ellen használt fungicidekkel szemben kialakult rezisztencia (Plesken *et al.*, 2021).

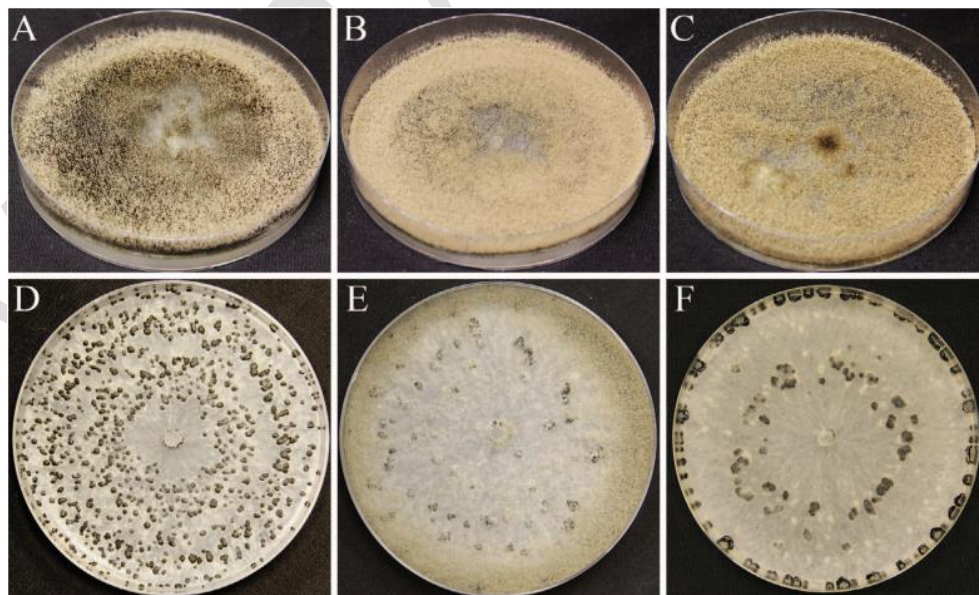
### 3.4.3. Hazai és külföldi populációs példák

Azokon a területeken, ahol rendszeresen folyik mezőgazdaság vagy kertészeti tevékenység a kórokozók mindig is nagy figyelmet kaptak, köszönhetően kártételüknek. Hazánkban is rendszeresen jelen van a *B. cinerea*, valamint a *B. pseudocinerea*. Ezen gombák genetikai sokszínűségének vizsgálata alapján betekintést nyerhetünk a köztük lévő különbségekbe, köszönhetően Feketének és munkatársainak (2011). Vizsgálatuk célja az volt, hogy a Magyarországon található *B. cinerea* izolátumokat meghatározzák az I. és II. csoport rendszerezése alapján, ugyanakkor elemezzék az együtt élő populációkat. A tanulmányukhoz szükséges mintákat 2007 és 2009 között gyűjtötték különböző gazdanövényekről, köztük szamócáról, málnáról, olajrepcéről és bortermő szőlőről. A 2008-ban vett mintákból PCR-RFLP (polimeráz láncreakció és restrikciós fragmenthossz-polimorfizmus) alapján tizenhárom repceből és szamócából származó izolátum tartozott a kísérlet időpontjában a még *Vacuma* I. csoporthoz. A II. csoportba tartozó törzseket csak szamóca és málnaültetvényekből izolálták. A transzponáló gének jelenléte szintén eltérő volt a csoportokon belül. Az I. csoport izolátumainak túlnyomó többsége csak a *Boty* transzpozont hordozta, míg a II. csoport izolátumai között a *Transposa* és a *Boty* volt a leggyakoribb genotípus. A *Flipper* elemet kevés esetben tudták kimutatni a II. csoportban lévő izolátumok közül. A II. csoport mintáiban egyetlen esetben sem tudtak transzpozonspecifikus hibridizációt felismerni. Morfológiai különbségeket keresve a konídiumok hosszát is megvizsgálták a csoportok

között. Az I. csoport vegetatív spóramérete átlagosan 11,65 µm volt, a II. csoporté pedig 10,73 µm. Noha az eltérés nem volt számottevő, a megfigyeléseik alátámasztották, hogy a *B. cinerea* I. csoportba tartozó izolátumok többnyire hosszabb konídiumokat hoztak létre, mialatt a II. csoportba tartozó izolátumoknál nagyobb méretvariabilitás volt megfigyelhető. A kapott eredményekre való tekintettel elmondható, hogy a Magyarországon megtalálható fajkomplex populációinak meghatározásában a transzpozon elemekre épülő molekuláris markerek önmagukban csak korlátozott értékkel bírnak. Ugyanakkor hazai területen változatosabb genetikai felépítésre utalnak a kutatók által végzett vegetatív kompatibilitási analízisének eredményei (Fekete *et al.*, 2011).

Az Egyesült Államokban a szőlő és az áfonya olyan friss gyümölcs, amelyet szinte minden nap előszeretettel fogyasztanak a vásárlók. A terméseken elsősorban a *Botrytis cinerea* fajkomplex tagjai által okozott szürkerothadás figyelhető meg. A kórokozót mind a tárolást, mind az eltarthatóságot befolyásoló tényezőként tartják számon. Ennek következtében a kémiai úton való védekezés már régóta fontos pontja a *Botrytis* fajok által okozott betegségek elleni küzdelemnek az országban. A gomba populációnak, valamint adott fajösszetételének megismerése elősegítheti a kémiai védekezést, ugyanis a különböző fajok eltérő módon reagálhatnak a fungicidekre. A *B. cinerea* rendelkezik a legszélesebb gazdanövény körrel és nagy genetikai változatossággal a *Botrytis* nemzetségen belül. Saito és munkatársai 2012 és 2013 között mintákat gyűjtöttek Kalifornia állam középső területén áfonya és szőlőültetvényekben, hogy feltérképezzék a *Botrytis* fajok fungicid-rezisztencia profilját az adott régióban. A *B. pseudocinerea* fenhexamiddal szembeni rezisztenciája már korábban kiderült, köszönhetően Fourniernek és munkatársainak (2007). A kutatás során 526 áfonya izolátum közül négyet *B. pseudocinerea*-ként azonosítottak. További hat izolátumot soroltak be ugyanazon fajba, hármát-hármát két növény mintáiból. Annak ellenére, hogy az I. csoportba kerültek az izolátumok, mégis különbséget figyeltek meg a konídiumokat illetően, mivel azok jelentősen hosszabbak voltak, mint a *B. cinerea* vagy a *B. pseudocinerea* esetében. Emiatt egy, még le nem írt *Botrytis* faj lehetősége is előtérbe került. Hogy meghatározzák és azonosítsák a fajt, morfológiai és fiziológiai jellemzők vizsgálatát végezték el, valamint a *Botrytis* faj megkülönböztetésére gyakran használt három nukleáris gén szekvenciáiból következtetett filogenetikai elemzést. Patogenitásának vizsgálatához a *B. cinerea*-val és a *B. pseudocinerea*-val összehasonlítva hasonlóan az áfonyán és a szőlő gyümölcsökön végezték el a kísérletet, hogy megállapítsák, képes-e szürkepenészes rothadást okozni a vélhetően új faj. Vizsgálataik eredményeként egy új fajt írtak le, amely a *Botrytis californica* nevet kapta, a *B. cinerea* fajkomplexen belül. Az új faj a három fehérjekódoló gén filogenetikai elemzése alapján egy monofiletikus csoportot alkot, amellel morfológiailag is különbözik hosszú konídiumai miatt a fajkomplex többi tagjától. A *B. californica* hat izolátumának restriktív sáv-profilja azonos volt a *B. pseudocinerea*-val és a Zhou és munkatársai (2014) által végzett vizsgálatok révén a *B. sinoviticola*-val is. Ez a tulajdonság arra utal, hogy az I. csoportban több rejtett faj is létezik, köztük a *B. californica*, a *B. sinoviticola* és a *B. pseudocinerea*. Az alkalmazott módszerek és azok eredményei arra is rádobbertették a kutatókat, hogy a PCR-RFLP elemzés önmagában már nem bizonyul elegendőnek a három faj egymástól való elkülönítéséhez, amelynek feltételezhetően az az oka, hogy az ITS-szekvencia („internal transcribed spacer” –

belső átíródo elválasztó szakasz) nem biztosít elég információt a megkülönböztetéséhez. Átala csupán a *B. cinerea*-tól való eltérést lehet sikeresen kimutatni. A *Botrytis* nemzetségen belül előfordulnak interspecifikus kereszteződések, így a fajok közötti génáramlás is megfigyelhető bizonyos esetekben. A *B. cinerea* és a *B. pseudocinerea* egymás közti szaporodása már tisztázott (Walker *et al.*, 2011). Ugyanakkor az, hogy a *B. californica* miként viszonyul a *B. cinerea* és a *B. pseudocinerea* fajok közötti kereszteződéshez még további vizsgálatokat igényel. A fajokon belüli kereszteződések a fungicid-rezisztencia vagy más fenotípusos tulajdonságok kialakulása miatt bírnak jelentőséggel. A *B. californica* izolátumai érzékenységet mutattak a fenhexamidra, amely arra enged következtetni, hogy a kaliforniai áfonyában és csemegeszőlőben előforduló *B. californica* ellen alkalmazható hatóanyagról van szó. A kísérletben összevetett *B. sinoviticola* fenhexamid érzékenysége hasonló volt, mint a *B. californica* esetében, így a megkülönböztetés alapját a morfológiai jellemzők eltérése adta a következőkben. A *B. californica* konídiumai jelentősen hosszabbnak bizonyultak, mint a *B. sinoviticoláé*. Azonkívül az új faj által termelt szkleróciumok száma is nagyobb volt, mint a *B. sinoviticola* megfigyelése során (5. ábra). A korábbi vizsgálatokból származó adatokkal összevetve a kutatók arra jutottak, a *B. californica* hosszú konídiumai jelenthetik a leghatékonyabb diagnosztikai jellemzőt, amely alapján elkülöníthető a faj magától a *B. cinerea*-tól. Annak ellenére, hogy úgy találták, a *B. californica* nagy földrajzi területekre képes elterjedni, gyakoriságát alacsonynak vélték. Ennek oka, hogy a begyűjtött minták vételi helyei mintegy százhusz kilométer távolságra terülnek el egymástól eltérő megyékben. Így szórványos megjelenéséből adódóan jelenleg kisebb jelentőséggel bír a növények szürkerothadását kialakító *Botrytis* fajokon belül. Ugyan a *B. cinerea* számos gazdanövényvel rendelkezik, ennek ellenére a *B. californica* lehetséges gazdanövénykörét még nem ismerik a kutatók. Azt azonban sikeresen igazolták, hogy mind az áfonyát, mind pedig a szőlőt képes fertőzni (Saito *et al.*, 2016).



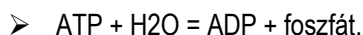
5. ábra: A *B. californica* (A,D), a *B. cinerea* (B,E) és a *B. pseudocinerea* (C,F) fajok tenyészbélyegei

(Forrás: Saito *et al.*, 2016).

### 3.4.4.A *Botrytis* fajok kapcsán vizsgált fehérjék és génfunkciók

Az MS547 gén az Adenozin-trifoszfát (ATP)-függő RNS-helikáz DBP7 gén. Feladata összetett, leginkább molekuláris funkciókkal rendelkezik. Elsősorban az ATP-hez való kötődést szükséges megemlíteni. Az Adenozin-trifoszfáthoz, – mint általános koenzimhez és enzimszabályozóhoz – kapcsolódik. Emellett a helikáz aktivitásért ismert folyamat során katalizátor szerepet tölt be. Fehérjeként az ATP hidrolízisének sebességét növeli, miközben reagál a többi résztvevő anyaggal.

A vízzel való reakció az alábbi egyenlettel írható fel:



Azon túl, hogy a primer az adenozin-trifoszfáttal szoros kapcsolatba kerül, harmadikként megemlíthető funkciója egy adott nukleinsavhoz való kötődés (UniProt, 2023). A fehérje háromdimenziós szerkezetét a 6. ábra mutatja be.



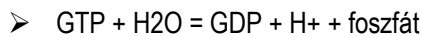
6. ábra: MS547 génfehérje térbeli szerkezete – 257 aminosavból álló

(Forrás: <https://www.uniprot.org/>)

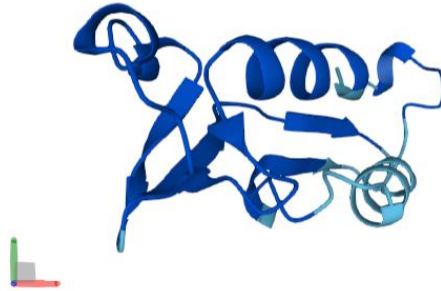
A  $\beta$ -tubulin/Béta-tubulin fehérje gén a korábbiakkal ellentétben már sejtalkotóként is megjelenik, pontosabban mikrotubulusként. Ezen alkotó széles körben van jelen az eukarióta sejtekben. Belső átmérője 12-15 nm, míg a külső 24 nm. Szerkezetét a 7. ábra szemlélteti. Alakját tekintve egyenes formával rendelkezik, képződménye egy üreges cső. Tubulin protofilamentumokból épül fel, amelyek eloszlása lehetővé teszi, hogy a tubulin monomerek spirális mintázatban helyezkedjenek el a mikrotubuláris felületen. Fiziológiai ingerek hatására könnyedén szétesik, ugyanakkor hasonló egyszerűséggel kapcsolódnak egymásba építőkövei. Továbbá a sejtvázszerkezeti eleme, hatása révén lehetővé teszi a citoskeletális szerkezet épségét és integritását.

Molekuláris feladatai közé soroljuk a Guanozin—trifoszfáthoz (GTP) kötődést, valamint a GTP-áz aktivitást. Ez utóbbi a GTP hidrolízis biológiailag döntő jelenséggel bíró reakcióka, amely szinte minden sejt folyamat szabályozásában részt vállal.

A reakcióegyenlete a következő:



A  $\beta$ -tubulin annak köszönhetően, hogy mind a sejtben, mind pedig azon belül a sejtvázonban komponensként van jelen, így bármely olyan folyamat, amely mikrotubulus alapú, azzal kapcsolatban áll (UniProt, 2023).



7. ábra: BT génfehérje térbeli szerkezete – 88 aminosavból álló

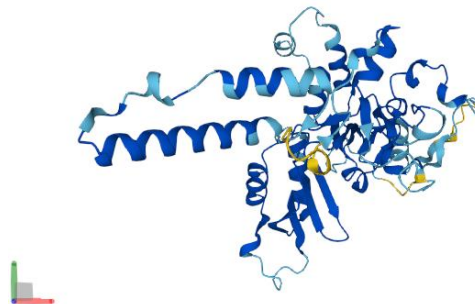
(Forrás: <https://www.uniprot.org/>)

Az RPB2 génfehérje teljes neve az RNS-polimeráz II gén. Egy fehérjekomplex, amely DNS-irányított RNS-polimeráz aktivitással rendelkezik és amelynek térbeli alakját a 8. ábra mutatja be. Szerepe a DNS kötődés, azaz bármilyen molekuláris lépés során jelen van, amely alatt egy géntermék szelektíven és nem kovalens módon lép kölcsönhatásba a dezoxiribonukleinsavval. Egyúttal egy RNS-szál 3'-végének DNS-templát által irányított megnövelés vagy kiterjesztés katalizátori szerepéért is felelős. A folyamat voltaképpen RNS-transzkriptum szintézise DNS-templátból, amely adott időben egy nukleotidra értendő.

A reakció egyenlete a következő:



Ezen felül a ribózhoz, mint monoszacharidhoz kötődő purin- vagy pirimidin-nitrogénbázisból álló ribonukleozidhoz való kötődés biztosítása is feladatai a közé tartozik (UniProt, 2023).

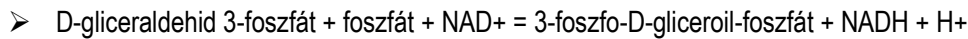


8. ábra: RPB2 génfehérje térbeli szerkezete – 360 aminosavból álló

(Forrás: <https://www.uniprot.org/>)

A gliceraldehid-3-foszfát-dehidrogenáz enzim, amely az alábbi *D-gliceraldehid-3-foszfát: NAD+* oxidoreduktáz névre keresztelt reakcióban vesz részt.

A folyamat egyenlete a következő:



Molekuláris szinten képes kötődni a nikotinamid-adenin-dinukleotidhoz, ahogyan nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfáthoz is. A két koenzim számos redox- és bioszintetikus reakcióban vesz részt. A kötődés történhet az oxidált alakhoz ( $\text{NAD}^+$  és  $\text{NADP}^+$ ) vagy a redukált formához ( $\text{NADH}$  és  $\text{NADPH}$ ).

Szerepe van a glükóz anyagcsere folyamatban. Ez alatt a glükóz, az aldohexóz glükóz-hexóz kémiai reakcióit szükséges értenünk. Annak okán, miszerint a *D*-glükóz, – vagy másnéven dextróz –, az élő szervezetek elengedhetetlen energiaforrása, így az élő szervezetek tápanyagának alkotójaként is jelentőséggel bír. Ehhez kötődően glikolitikus folyamatok során is előtérbe kerül, amely alatt a szénhidrát piruváttá bomlását eredményező kémiai reakciókat értjük. Ennek mellékterméke a kis mennyiségű ATP, valamint mellékfolyamata a  $\text{NAD(P)}$   $\text{NAD(P)H}$ -vá történő redukálása (UniProt, 2023). Térbeli szerkezetét a 9. ábra ismerteti.



9. ábra: G3PDH génfehérje térbeli szerkezete – 283 aminosavból álló

(Forrás: <https://www.uniprot.org/>)

### 3.4.5. Abiotikus tényezők hatása a kórokozóra

A környezeti feltételek befolyásoló hatása vitathatatlan a természetben jelenlévő kórokozók esetében. A *B. cinerea* megjelenésénél gyakran kerül előtérbe a hőmérséklet, valamint a lehullott csapadék, ugyanis a két tényező szerepet játszik a gomba terjedésében. A szürkerothadás problémáját különböző ültetvényekben tapasztalják szerte a világon, ahogyan szinte minden borvidéken. A kórokozó évenkénti megjelenésének-, valamint a borkészítésre gyakorolt hatásának köszönhetően mindig is kutatási témát biztosított azokon a területeken, ahol a mezőgazdaság jelentős részét képezi a szőlőtermesztés (Cliberti *et al.*, 2016). 2004 és 2013 között német kutatók feljegyzéseket készítettek annak érdekében, hogy megállapítsák miként hat a környezet a kórokozó felbukkanására és terjedésére. *Vitis vinifera* L. típusú Rizling fajta ültetvényeket választottak ki, amely az egyik leggyakrabban termesztett fajta a luxemburgi térségben. Az 1982-ben telepített, 5C alanyra



oltott szőlőket rendszeres növényvédelmi kezeléssel látták el peronoszpóra (*Plasmopara viticola*), illetve lisztharmat (*Erysiphe necator*) ellen, de kifejezetten *B. cinerea* ellen ismert fungicidet nem alkalmaztak. A rovarkártétel megakadályozása érdekében feromoncsapdákat helyeztek ki az ültetvényben. Négy változót felvételeztek az adatgyűjtés során, köztük a napi átlaghőmérsékletet, a napi csapadékösszeget, a levélfelület nedvesség időtartamát és az úgynevezett Bacchus indexet. Ez utóbbi a szürkerothadás kockázatának előrejelzését teszi lehetővé, amely kockázati indexet számít ki minden olyan órára, amikor tapasztalható felületi nedvesség. Figyelembe veszi, hogy a kórokozó fejlődéséhez elengedhetetlen nedvességi-időszak tartama a hőmérsékleti viszonyok függvénye. A kutatás során a szezonbeli kritikus időszakok kimutatására ablaktábla elemzéseket alkalmaztak, amelyhez a BBCH skála 65 stádiumát vették alapul. A stádium a teljes virágzást foglalja magába, amikor a virágok 50%-a már lehullott (FMC, 2020). A fejlettségi állapot fontossága abban nyilvánul meg, hogy ekkor a környezeti változók nagymértékben befolyásolják a terjedés termikus-időbeli helyzetét. A módszer lehetővé teszi, hogy azoknak az időablakoknak, amelyek során a környezeti változók átlagos értékei szignifikánsak összhangban vannak a betegség szintjeivel egy adott pontban, meghatározzuk a kezdeti időpontját, valamint a hosszúságát. A vizsgálathoz öt, tíz, húsz, harminc, ötven vagy száz nap szélességű ablakokat használtak, melyeket a teljes virágzás előtti ötven nap és az azt követő százhuszonöt nap közötti időkeretek mentén mozgattak napi léptékekkel. Kimutatták, hogy a fenológiai fejlődés különböző fázisaiban a meteorológiai viszonyok jelentős hatással vannak az adott évi járvány termikus-időbeli helyzetére. A BBCH 65 stádium utáni napi átlaghőmérséklet korrelál a korai járványok felütésével, még a zsendülés időszakában a relatíve magas átlaghőmérséklet a későbbi járványokkal. A hőmérséklet mellett a csapadékösszegek szintén hatással vannak a betegség folyamatára. A zsendülés alatt hullott magas csapadékmennyiség potenciálisan kapcsolatba hozható a korai szürkerothadás tüneteivel és annak kialakulásával. A jelenség azzal magyarázható, hogy a csapadék és a víz elősegíti a kórokozó fejlődését, valamint a több csapadék a bogyókba beáramló víz mennyiségét is növeli. Ezáltal a teltebb bogyók tömörebb, levegőtlen fürtöket eredményeznek, továbbá a bogyórepedés negatív következményeit is előidéz (Molitor *et al.*, 2020).

#### **3.4.6. Nemesrothadás**

A borkészítés szempontjából többféle érési típust különböztetünk meg. Biológiai érettségről akkor beszélünk, amikor a növény fenológiai fázisait vesszük alapul, még technológiai érés esetében az általunk előállítani kívánt termékhez szükséges érettséget. Tokaj–Hegyalján az aszúsodás egy technológiai követelmény, amely biológiai alapokon nyugszik. A termés alakulása a túléréssel ellentétben nem csak az évszakváltozásoknak köszönhető, hanem a *B. cinerea* gombafajnak is. A töppedést ugyanis a két tényező együttese teszi lehetővé. A folyamathoz három feltétel nélkülözhetetlen: magas környezeti páratartalom, sérülésmentes bogyófelület és a fertőzést követően száraz időszak (Magyar és Soós, 2016).

Az aszúsodott szemekből készült borokban érzékszervi átalakulások is lezajlanak, köszönhetően a kialakuló másodlagos metabolitoknak, hiszen a folyamat, – amelyet nemesrothadásnak nevezünk, – a szemek fejlődésének és anyagcseréjének figyelemre méltó átírását végzi. Mérhetően nő a glükonsav, valamint a glicerin

koncentrációja, amely úgynevezett lábakként figyelhető meg a pohár falán. Illatukat tekintve ezen termékek egyfajta "gombás" jelleget vesznek fel. Gyakori jelenség, hogy a rothadáson, akár nemesrothadáson átesett termésből keletkező borokban poliszacharid mézgaanyagok felelősek a nyúlósságért. A legkiemelkedőbb ezek közül a dextrán, amelyet maga a *B. cinerea*, illetve néhány baktréiumfaj termel (Kállay, 2010).

A gomba extracelluláris enzimek segítségével bontja meg a sértetlen bogyóhéjat, majd alatta micélium formájában terjedni kezd, átszúrva a kutikulát. A már átszótt szöveti részek elvesztik korábbi funkcióikat, a víz és az asszimiláták felvétele megszűnik, a bogyók színe sötétté válik, azután kékes–barna árnyalatot öltenek magukra, amely a 10. ábrán is megfigyelhető. A botritiszes szemekből készült termékek a borkülönlegességeknek elkeresztelt kategóriába tartoznak, főként édes borok alapanyagaként használják fel a fertőzött szőlőfürtöket. Ugyanakkor meg kell említeni, hogy a borok magas cukortartalma nem a cukortöbbletnek köszönhető, – mint azt sokan gondolnák, – ugyanis a *B. cinerea* nem növeli a már meglévő cukormennyiséget, csupán a töppedésnek köszönhetően az értékes anyagok bekonzentrálódnak a szemekben (Kállay, 2010).



10. ábra: Kezdetleges nemesrothadás

(Forrás: Saját kép)

## 4. Anyag és módszer

### 4.1. A vizsgálat helye és ideje

A vizsgálatot a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Növényvédelmi Intézetében végeztük 2022 és 2023 között. A kórokozó táptalajra oltását és molekuláris azonosítását a Növénykórtani Tanszék laboratóriumában végeztük.

### 4.2. A vizsgálat anyaga

#### 4.2.1. Vizsgált minták és területek

A *B. cinerea* minták vételi helyét, a szőlők fajtáját és a tőkék művelésmódját a 2. táblázatban foglaltam össze. Tizenegy területről szedtem fertőzött, konídiumtartó gyeppel benőtt fürtöket 2022. szeptemberének több hetében. Olyan dűlők mellett döntöttem, amelyeket fizikai gátként egymástól hegyek, dombok határolják el. Ezáltal csökken az egyes ültetvényekből a gomba terjedésének lehetősége. A nemesrothadásként ismert biokémiai folyamat nem egyöntetűen jelenik meg a régióban. Azt a gomba megléte, terjedése, valamint a környezeti hatások összetettsége alakítja és idézi elő. Továbbá a borvidéken engedélyezett hat szőlőfajta fogékonysága is eltérő, pozitív jelensége nem következik be azonos mértékben. Az ültetvények kora, a művelés módja szintén befolyásoló tényező lehet, főként a mikroklimatikus adottságok létrejötte miatt. A borvidéken gyakori a középmagas kordon, amely a talajszinttől 70–100 centiméterre helyezkedik el.

2. táblázat: A felhasznált izolátumok származása

Izolátum neve	Fajta	Terület/Dűlő	Művelésmód
BC1	Furmint	Olaszliszka – Haraszt	Ernyő
BC2	Sárgamuskotály	Erdőbénye – Kulcsár	Alacsony kordon
BC3	Hárslevelű	Sárazsádan – Rudnok	Középmagas kordon
BC4	Furmint	Tarcal – Mester-völgy	Középmagas kordon
BC5	Kövérszőlő	Szegi – Somos	Középmagas kordon
BC6	Furmint	Tállya – (Házikert)	Középmagas kordon
BC7	Furmint	Tolcsva – Kincsem	Középmagas kordon
BC8	Furmint	Sárospatak – Király-hegy	Középmagas kordon
BC9	Furmint	Sátoraljaújhely – Oremus	Alacsony kordon
BC10	Hárslevelű	Tokaj – Tajpó	Középmagas kordon
BC11	Furmint	Mád – Kővágó	Középmagas kordon

#### 4.2.2. Alkalmazott táptalaj, primerek, pufferek, enzim és DreamTaq enzim

A vizsgálat során burgonya dextróz agart (PDA - Potato Dextrose Agar, glükózzal - BioLab Zrt.) alkalmaztunk a tenyészetek előállításához, valamint az izolátumok fenntartásához. A *Botrytis cinerea* fajok kimutatására több primerpárt használtunk. Ezeket a 3. táblázat szemlélteti. A DNS kivonáshoz CTAB

(Cethyltrimethylammonium bromid) puffert, a polimeráz-láncreakció vizsgálatához Taq DNS polimeráz enzimet alkalmaztunk.

3. táblázat: Alkalmazott primerek és célszekvenciák

Primerek	PCR ciklus			Célszekvencia hosszúsága
	Denaturáció	Primer kötődés	Lánchosszabbítás	
MS547-F MS547-R	94°C, 30s	54°C, 30s	72°C, 60s	600~ bp
BT1a BT1b	94°C, 30s	50°C, 30s	72°C, 60s	600~ bp
RPB2-F RPB2-R	94°C, 30s	52°C, 30s	72°C, 60s	600~ bp
G3PDH-F G3PDH-R	94°C, 30s	59°C, 30s	72°C, 60s	600~ bp
ITS1 ITS4	94°C, 30s	55°C, 30s	72°C, 60s	600~ bp

#### 4.2.3. Felhasznált eszközök és oldatok

Kórokozó izolálása, három pontos leoltás – nyers tenyészet készítése:

- 85 mm átmérőjű, műanyag Petri-csésze (11 db - mintánként 1)
- Táptalaj: PDA - Potato Dextrose Agar, glükózzal (BioLab Zrt.)
- *Botrytis cinerea*-val fertőzött szőlőminták különböző területekről begyűjtve (2. táblázat)
- Lándzsatű
- Nyílt láng
- Alkohol

Tiszta tenyészet készítése:

- 85 mm átmérőjű, műanyag Petri-csésze (11 db - mintánként 1)
- Táptalaj: PDA - Potato Dextrose Agar, glükózzal (BioLab Zrt.)
- Nyerstenyészetek
- Dugófúró
- Lándzsatű
- Nyílt láng
- Alkohol

A Polimeráz láncreakcióhoz felhasznált eszközök; DNS kivonás:

- 11 *Botrytis cinerea* izolátum - PDA táptalajon kitenyésztett tisztatenyészet
- Dugófúró
- Oltólándzsa
- Steril dörzsmozsár

- Kvarchomok
- CTAB (Cethyltrimethylammonium bromid) puffer
- Eppendorf csövek
- Izoamilalkoholos kloroform - 1:24 keveréke
- Izopropanol
- Vortex
- Centrifuga
- Automata pipetta
- Primerek (3. táblázat)
- Mastermix
- Applied Biosystems 9700 PCR készülék

A gélelektroforézishez felhasznált eszközök:

- 1%-os agaróz gél
- Fésű
- Ecosafe festék
- 1 kb marker
- Futtató kád
- Tápegység
- Géldoc

### **4.3. A vizsgálat módszere**

#### **4.3.1. A firtók gyűjtése és tárolása**

A kutatáshoz szükséges mintákat átfogóan a borvidék dűlőiből gyűjtöttem, a Tokaj-Hegyaljai régiót lefedve. A firtókat egymástól elkülönítve, külön dobozokban tároltam, hogy az egyes termésekről való átfertőzödést elkerüljem. A kiválasztott ültetvényekből 3–3 firtót szedtem, egy adott fajtán belül. A dobozokat a táptalajra való leoltást megelőzően hűtőszekrényben tároltam, majd egyesével megkezdttem a gombaképletek mintavételét.

#### **4.3.2. A kórokozó izolálása**

A kórokozó izolálásához Petri-csészébe töltött burgonya dextróz agart (PDA) használtunk. A gomba képleteinek levétele steril lándzsátűvel történt. Hárompontos leoltást alkalmaztam. A tenyészeteket 24°C hőmérsékleten, 12 óra napi megvilágítottság mellett egy héten keresztül inkubáltuk. A kapott piszkos tenyészetek mintázata eltérő volt.

Az inkubálás után a már növekedésnek indult nyers tenyészetek széléről újabb átoltást végeztem. Steril körülmények között, lamináris boxban végeztem az újabb oltásokat, 7mm-es dugófúrót használtam. A

fertőtlenítését azonos módszerrel hajtottam végre. A csíramentes táptalaj közepére helyeztem a mintákat, majd újabb egy hetes inkubálásra helyeztem be a fitotronba. Az inkubálást követően a tiszta tenyészetekkel dolgoztunk a molekuláris vizsgálatok során.

### 4.3.3. Molekuláris vizsgálatok

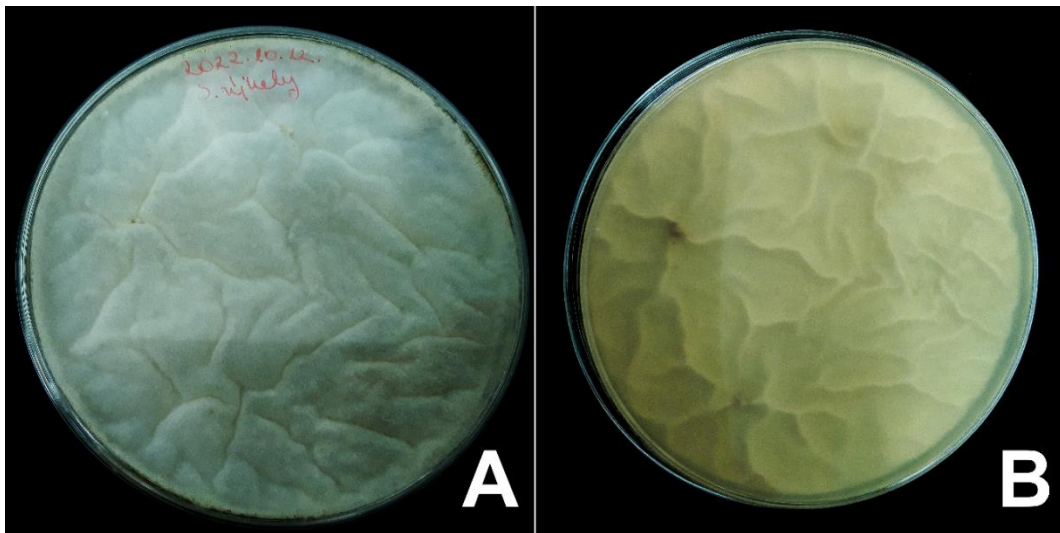
A vizsgálathoz készített izolátumokból DNS kivonást végeztem, hogy a *B. cinerea* fajkomplex tagjainak összetételét meghatározzam.

1. A DNS kivonás a Petri-csészébe oltott, tiszta tenyészetből kivágott micéliumkorong felhasználásával történt.
2. Steril bokszt alatt micéliumkorongokat emeltünk ki a táptalajból és steril dörzsmozsárba helyeztük, majd kvarchomokkal homogenizáltuk. Minden mintához 600 µl CTAB (Cethyltrimethylammonium bromid) puffert adagolása mellett dörzsöltük el. Az így kapott elegyet mikrocentrifuga csövekbe öntöttük át.
3. A csöveket 65°C-on inkubáltam 45 percen keresztül.
4. Az inkubálást követően minden mintához 600 µl izoamilalkoholos-kloroformot adagoltam. Ezt kézzel ráztam össze, majd vortex gép segítségével kevertem át.
5. A keverés után 10 percen keresztül centrifugáltuk a csövekben lévő minták elegyét.
6. A letelt centrifugálási idő után az úgynevezett felül úszót (felső vizes fázist) ismét mikrocentrifuga csőbe pipettáztam át.
7. Az említett folyamatot megismételtük, 500 µl izoamilalkoholos-kloroform adagolása mellett. 10 perc centrifugálást követően a felülúszót ismételt mikrocentrifuga csőbe helyeztem át pipetta segítségével.
8. A nukleinsav kicsapásához 600 µl izopropanolt adtunk. A centrifugálás 5 percig tartott, majd fehéres csapadék képződött minden cső alján, amelyről a felső vizes fázist leöntöttük.
9. Az így képződött pelletet 70%-os etil-alkohollal átmostuk és 5 percig újra centrifugába helyeztük. A pelletről újfent leöntöttük a folyadékot. A beszárítás 15 percig történt.
10. Az RNS-ek elbontásához a pelletet 50 µl 10 µl/ml Rnase-t tartalmazó TE oldatban oldottuk vissza.
11. A kivont DNS mintákat -20°C-on tároltuk.

## 5. Eredmények

### 5.1. Morfológiai jellemzések

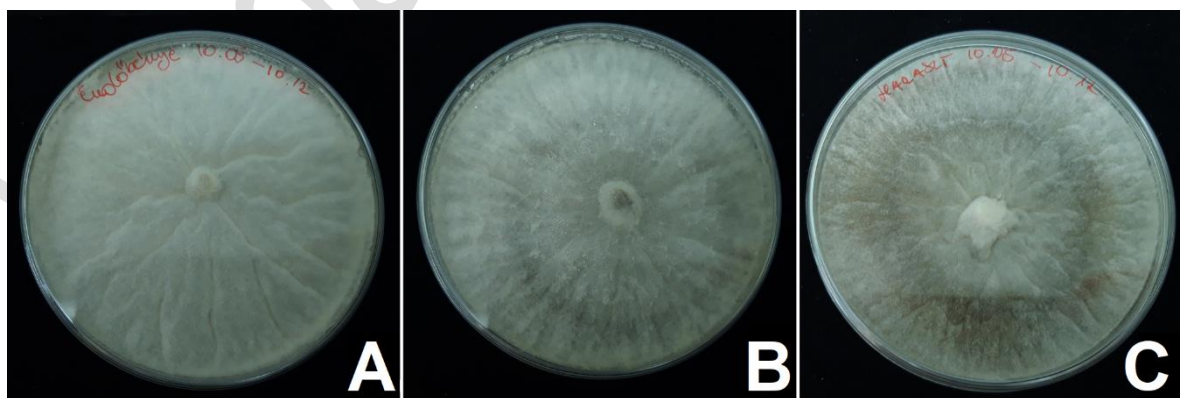
A *Botrytis cinerea* tenyészetek esetében eltérő morfológiai bélyegeket jegyeztünk fel. A PDA táptalajra leoltott minták 7-10 nap alatt nőttek be a Petri-csésze alapterületét. A tenyészetek színe különböző volt, a gyűjtési területektől és a szőlő fajtájától függetlenül. Egy hetes inkubálást követően a BC9 minta esetében hasadó tenyészetet kaptunk, amelynek színi (A) és fonáki (B) oldalát a 11. ábrán mutatom be.



11. ábra: A BC9 minta hasadó tenyésze egy hetes inkubálást követően

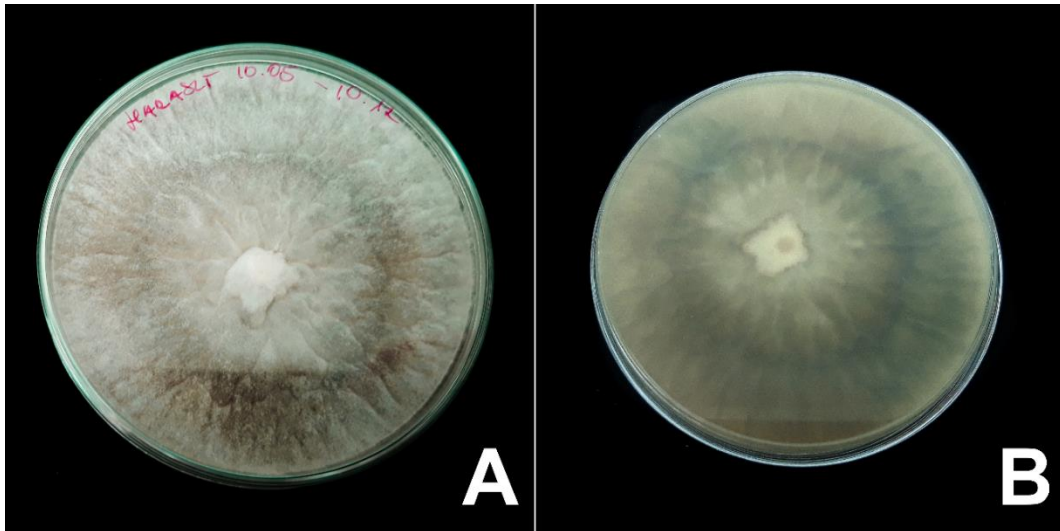
(Forrás: Saját kép)

Megfigyeltünk fehér (A), hamuszürke (B) és barnás (C) telepeket is. Ezt szemlélteti a 12. ábra, amelyen BC1 (A), BC2 (B), BC7 (C) minták tenyészbélyegei láthatók egy hét inkubálási idő eltelte után.



12. ábra: A BC1 (A), BC2 (B), BC7(C) izolátumok PDA táptalajon

A 13. ábrán látható a BC1 izolátum 14 napos tiszta tenyésze, valamint annak színi (A) és fonáki (B) oldala.



13. ábra: BC1 izolátum egy hetes tiszta tenyésze PDA táptalajon

(Forrás: Saját kép)

Megfigyeléseink alapján elmondhatjuk, hogy egyes tenyészetek esetében képződött szklerócium (14. ábra) mások esetében pedig nem figyeltünk meg képleteket. Továbbá a képletek mennyisége is eltérő volt a minták esetében.



14. ábra: A BC10 izolátum tiszta tenyésze szkleróciumokkal

(Forrás: Saját kép)

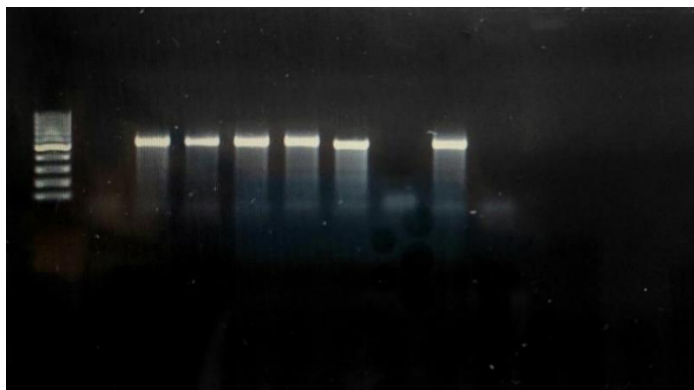
## 5.2. Molekuláris vizsgálatok eredménye

### 5.2.1. Azonosítás az ITS régió alapján

A molekuláris vizsgálat során sikeresen vontunk ki össznukleinsavat a kórokozók tiszta tenyészeiből. Az ITS régió vizsgálata során az ITS1 és ITS4 univerzális primerekkel megközelítőleg 600 bázispár hosszúságú termékeket amplifikáltunk a polimeráz láncreakció során (15. ábra). A nukleotid sorrend meghatározását



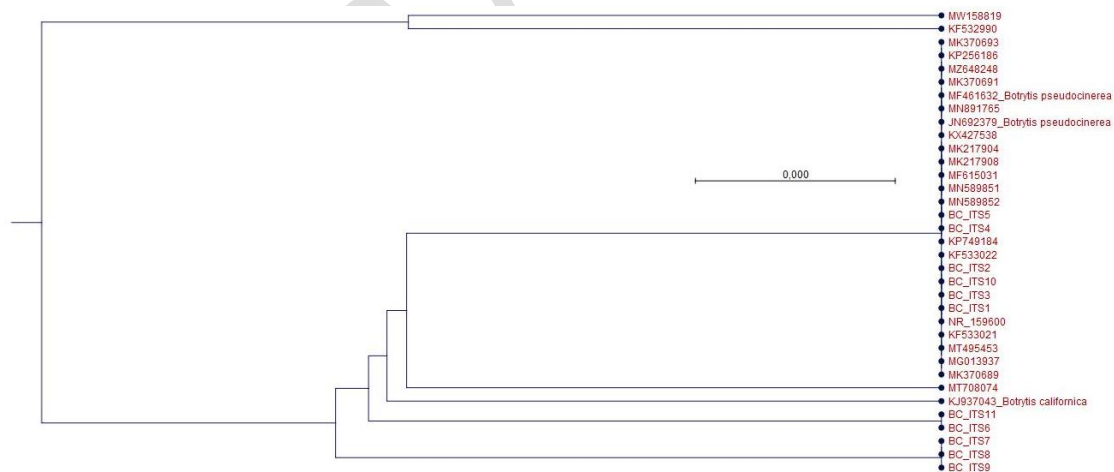
követően, saját izolátumaink 520 bp hosszúságú szakaszát összehasonlítva a nemzetközi adatbázis szekvenciáival megállapítottuk, hogy az általunk izolált kórokozók a *Botrytis cinerea* gombafajjal azonosíthatók.



15. ábra: *Botrytis cinerea* izolátumok PCR analízise

(Forrás: Saját kép)

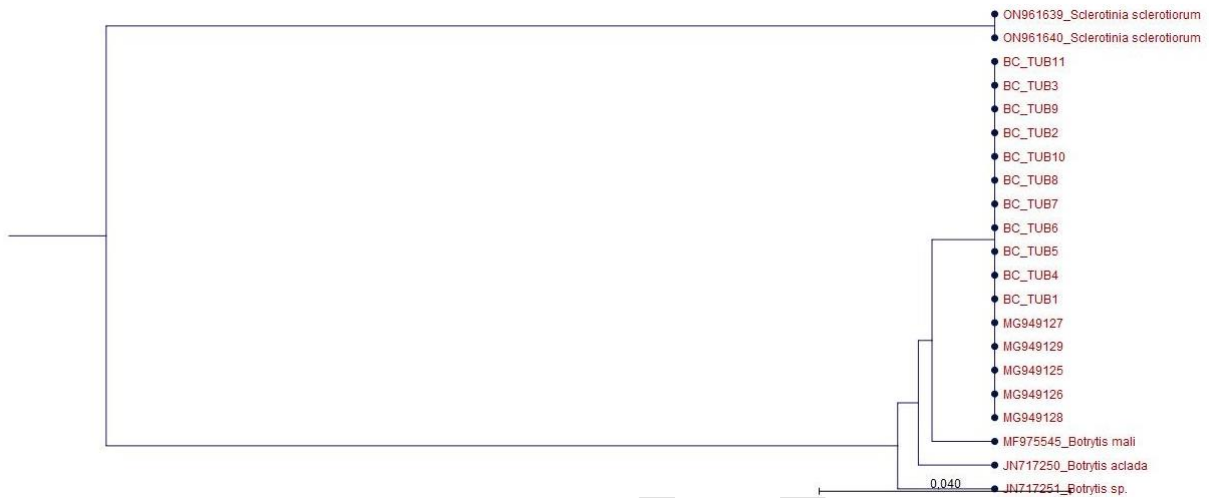
Összegyűjtve az adatbázisból a gomba külföldi izolátumainak szekvenciáit ebből a régióból - és összevetve a saját izolátumaink nukleotid sorrendjével - megállapítottuk, hogy izolátumaink a vizsgált szakaszon homológok a kórokozó külföldről közölt izolátumainak szekvenciáival (16. ábra). A dendrogramon azt is láthatjuk, hogy a fajkomplex másik két faja, a *Botrytis pseudocinerea* és *Botrytis californica*, ugyancsak hasonlóságot mutat a *Botrytis cinerea* izolátumokkal (16. ábra). Ez is megerősíti azt, hogy csupán az ITS régió vizsgálata a fajkomplexek esetében nem elegendő a fajok elkülönítésére.



16. ábra: *Botrytis cinerea* izolátumok filogenetikai törzsfája az ITS régió szekvenciájának alapján

### 5.2.2. Azonosítás a $\beta$ -tubulin gén részlete alapján

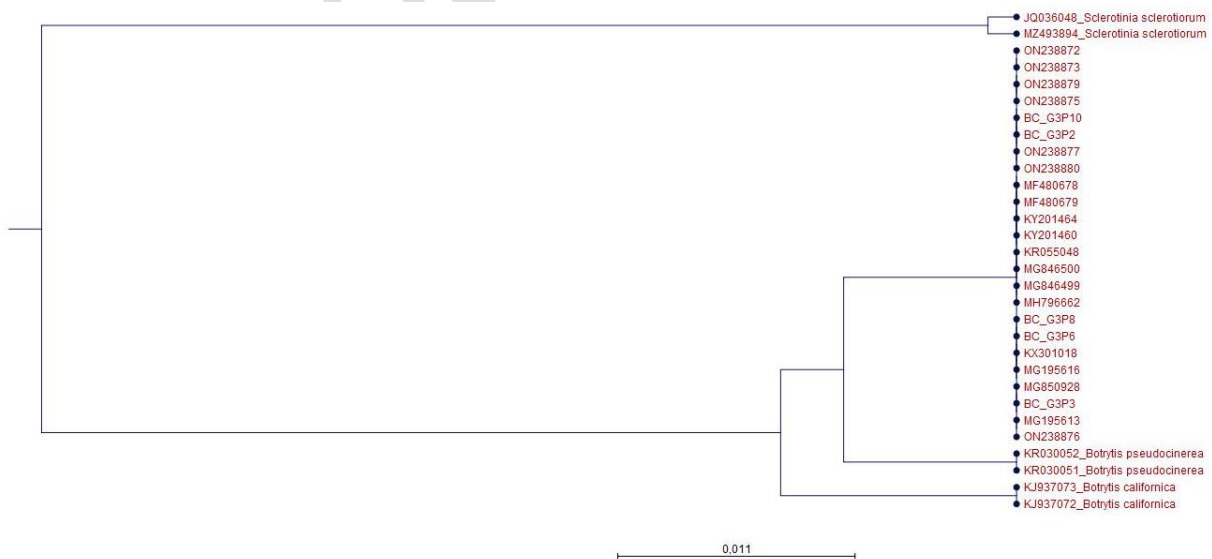
A BT1a és BT1b primerekkel kb. 600 bázispár hosszúságú termékeket amplifikáltunk a polimeráz láncreakció során. Mind a 11 izolátum szekvenciája 100%-os homológiát mutat az adatbázisból származó *Botrytis cinerea* referencia izolátumokkal (MG949125, MG949126, MG949127, MG949128, MG949129). A törzsfán a többi *Botrytis* faj és a *Sclerotinia sclerotiorum* izolátumok jól elkülönülnek a *Botrytis cinerea* izolátumoktól (17. ábra).



17. ábra: *Botrytis cinerea* izolátumok filogenetikai törzsfája az BT régió szekvenciájának alapján

### 5.2.3. Azonosítás a gliceraldehid-3-foszfát-dehidrogenáz enzim alapján

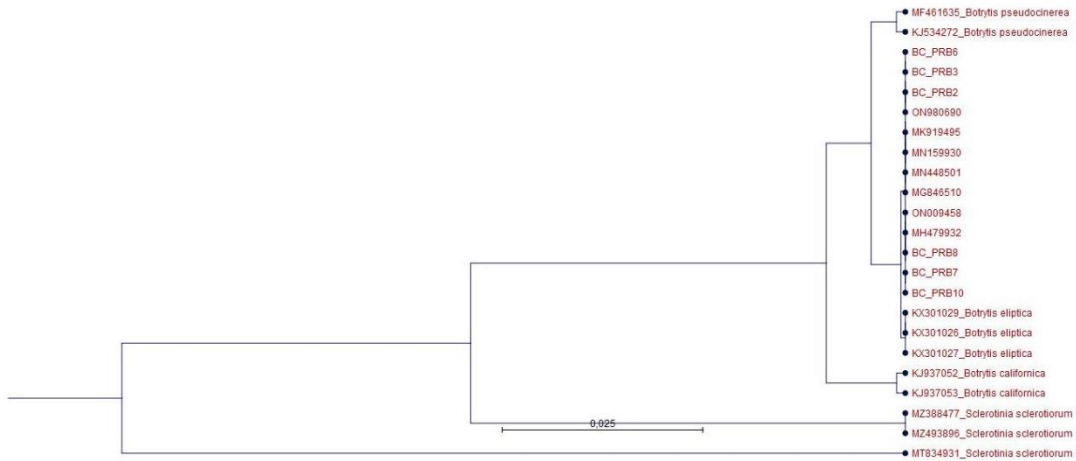
A G3PHD-F és G3PHD-R primerek kb. 600 bázispár hosszúságú amplikont eredményeztek. Ezzel a primerpárral a BC2, BC3, BC6, BC8 és BC10 izolátumok esetében kaptunk PCR terméket. Szintén 100%-os homológiát mutatnak a minták a *Botrytis cinerea* izolátumokkal (18. ábra).



18. ábra: *Botrytis cinerea* izolátumok filogenetikai törzsfája az G3PHD régió szekvenciájának alapján

#### 5.2.4. Azonosítás az RNS-polimeráz II gén (RPB2) alapján

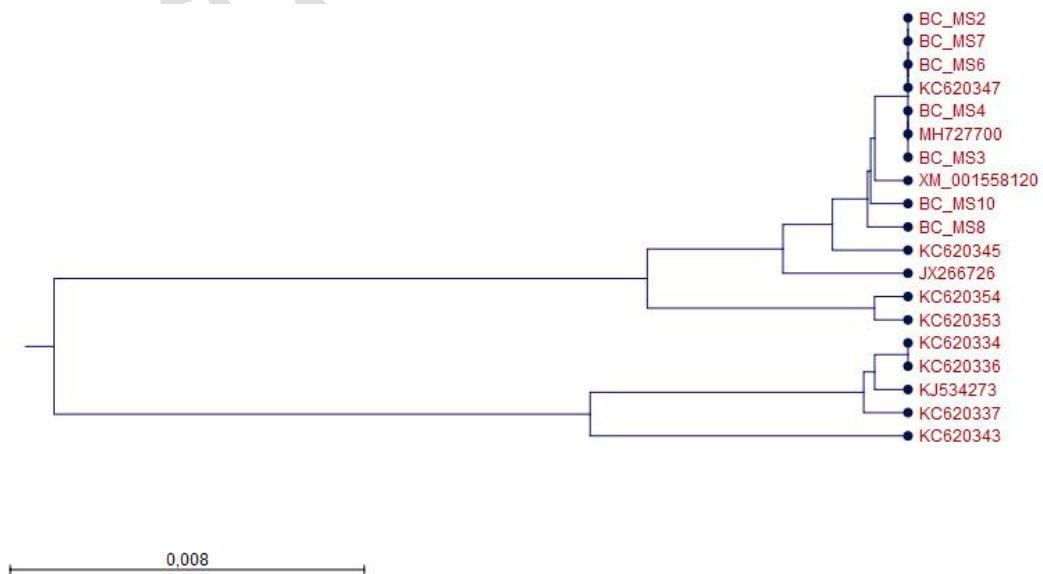
Az RPB2-F és RPB2R primerekkel is 600 bázispár hosszúságú PCR termék keletkezett. Ezzel a primerpárral a BC2, BC3, BC6, BC7, BC8 és BC10 izolátumok esetén kaptunk PCR terméket. A *Botrytis cinerea* izolátumokkal a saját izolátumaink 100%-ban azonosak (19. ábra).



19. ábra: *Botrytis cinerea* izolátumok filogenetikai törzsfája az RPB régió szekvenciárészlete alapján

#### 5.2.5. Azonosítás az MS547-es gén alapján

Az MS547-F és MS547-R primerekkel az adenzin-trifoszfát (ATP)-függő RNS-helikáz DBP7 génjét tudjuk vizsgálni. Ezzel a primerpárral a BC2, BC3, BC4, BC6, BC7, BC8 és BC10 izolátumok esetén kaptunk PCR terméket. Mintáink szintén a *Botrytis cinerea* izolátumokkal mutatnak hasonlóságot, külön ágon helyezkednek el a *Botrytis pseudocinerea* izolátumoktól (20. ábra).



20. ábra: *Botrytis cinerea* izolátumok filogenetikai törzsfája az MS régió szekvenciárészlete alapján

## 6. Következtetések

Az utóbbi évek kutatásai bizonyították, hogy a *Botrytis cinerea* fajkomplexet alkot, melybe egyre több *Botrytis* faj kerül (Saito *et al.*, 2016). A molekuláris vizsgálatokat megelőző morfológiai tulajdonságok is igen változatosak. A képződött képletek szerint megkülönböztettek szklerócium, konídium és micélium típusú telepeket (Pei *et al.*, 2019). Vizsgálataink során 11 izolátumot jellemeztünk, melyek közül 5 micélium, 6 szklerócium típusú volt. Saito és munkatársainak tenyészetével ellentétben a mi tenyészetekünk közül több is hasadó volt.

A molekuláris vizsgálatok során mi is tapasztaltuk, hogy csupán az ITS régió vizsgálata nem alkalmas a kórokozók egyértelmű azonosítására (Saito *et al.*, 2016). Ezen régió alapján a törzsfaj egy ágán helyezkedtek el a *Botrytis cinerea* és *B. pseudocinerea* izolátumok is, és homológiát mutattak az általunk gyűjtött izolátumokkal. Hasonlóan Pei és munkatársai eredményeihez (2019) az általunk gyűjtött izolátumok esetében a Blast NCBI (National Center for Biotechnology Information) segítségével elemzett G3PDH és RPB2 gének részleges szekvenciái szintén nagy százalékban azonosságot mutattak *Botrytis cinerea*-val, így egyértelműen kirajzolódott, hogy a *Botrytis cinerea* okozta a fertőzéseket.

Eredményeinkből adódóan a környezeti tényezőket tesszük felelőssé az aszúsodás folyamatáért, legalábbis annak elősegítéséért. A Tokaji borvidéken jelenlévő pozitív adottságok a tapasztalatok és a vizsgálatok alapján nagyobb szerepet játszanak a nemesrothadás kialakulásában, mint egy feltételezett *Botrytis* faj vagy törzs (Makra *et al.*, 2009). Azonban annak a lehetőségét sem zárhatjuk ki, hogy megfelelő környezetben, kedvező környezeti feltételek mellett bármely *Botrytis* faj hasonlóan pozitív rothadást idézhet elő.

## 7. Összefoglalás

Hazánk mezőgazdaságát számos növénykultúra színesíti. Nagy területeken találkozhatunk szántóföldi növényekkel, gyümölcsösökkel és szőlőkkel betelepített dűlőkkel is. A külön régiókkal rendelkező bortermő szőlő sajátossága a környezeti feltételekkel szembeni folyamatos túlélni akarás. Az alkalmazkodó képessége azonban a kórokozókkal szemben csekélyebb, így minden borvidéken jelentőséggel bír az ellenük való fellépés és annak fontossága.

A kórokozók leginkább negatív hatásuk révén kerülnek a figyelem középpontjába. Ez alól a *Botrytis cinerea* növénypatogén gomba sem jelent kivételt, csupán egyetlen borvidéken hazánkban. A Magyarország északkeleti részén elterülő Tokaj-Hegyalja a Zempléni-hegyvonulatnak, valamint a Bodrog és Tisza folyók vízfelületének köszönhetően kedvező környezeti adottságokkal rendelkező borvidék. A kórokozó számára előnyös páradús és enyhébb légkör azonban elősegíti a gomba terjedését. Annak ellenére, hogy más bortermő régiókban csak kártételével számolhatunk, a tokaji bortermelők a nemesrothadási folyamatokat köszönhetik a kórokozónak.

A *Botrytis cinerea* világszintű térhódítása közismert. Széles gazdanövényköréből adódóan szinte minden országban megfigyelhető, mint a szürkerothadásért felelős patogén kórokozó. A *Botrytis* nemzetségen belül megtalálható fajok morfológiailag hasonlóságot mutatnak, ugyanakkor a legapróbb eltérések is egy új faj eshetőségét hordozzák magukban. A korábban egy fajként ismert *B. cinerea* genetikai vizsgálatok következtében fajkomplexé alakult át. Külföldi kutatások alátámasztották, hogy az úgynevezett „ugráló gének” – vagyis transzpozonok – megléte vagy hiánya különböző törzsek jelenlétére utal a fajkomplexen belül. További vizsgálatok révén két csoportba osztották a törzseket, az I. (*Vacuma*) és a II. (*Transposa*) csoportba.

A transzpozonokra épülő besorolás ugyanakkor a későbbiekben érvényét veszítette a filogenetikai és polimeráz-lánreakciós vizsgálatok eredményéből kifolyólag. Fournier és munkatársai (2005) a *B. cinerea* két csoportját filogenetikai fajokra osztotta fel, melynek az volt az oka, hogy a több génszekvenciából meghatározott genetikai differenciálódás a korábban leírt típusok egyikével sem mutatott egyezést. Ennek következtében az I. csoport elkülönült a többitől és egy új fajként írták le, amely a *Botrytis pseudocinerea* nevet kapta.

Hazánk területén Fekete és munkatársai (2011) vizsgálták a *B. cinerea* izolátumokat, hogy meghatározzák azokat az I. és II. csoport rendszerezése alapján, valamint, hogy elemezzék az együtt lévő populációkat. Genetikai és morfológiai megfigyeléseik során azonban arra jutottak, hogy a Magyarországon megtalálható fajkomplex populációinak meghatározásában a transzponálható elemekre épülő molekuláris markerek önmagukban nem elegendőek, ellenben változatosabb genetikai felépítésre utalnak az általuk végzett vegetatív kompatibilitási analízisek.

További vizsgálatoknak köszönhetően amerikai kutatók sikeresen izoláltak egy új, *Botrytis* fajt a fajkomplexen belül. A fajok közötti különbséget mind genetikai, mind pedig morfológiai megfigyelések alapján határozták meg. Az új faj a *Botrytis californica* nevet kapta.

A külföldi vizsgálatokkal ellentétben mi a Tokaji borvidéken begyűjtött mintákból csupán a fajkomplex névadó tagját a *Botrytis cinera*-t tudtuk meghatározni, ugyanakkor morfológiai eltéréseket mi magunk is tapasztaltunk a tenyészetek között. Az ITS régió alapján a minták homológiát mutattak a *B. pseudocinerea*-val

is, ezért volt fontos további génszakaszok vizsgálata. A gének nukleotid szekvenciái alapján a *Botrytis cinerea* okozta a fertőzéseket Tokaj-Hegyalján.

A megfigyeléseinknek, valamint a molekuláris vizsgálatoknak köszönhetően arra a következtetésre jutottunk, hogy a Tokaj-Hegyalján gyakori nemesrothadási folyamatokat feltételezhetően az adott, kedvező környezeti tényezők teszik lehetővé, a kórokozó faja vagy törzse pedig másodlagos a biokémiai változásokat illetően.

Varga Aliz Zsófia

## 8. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek és oktatómnak, Dr. Tóth Annamáriának nem csupán a vizsgálataink során, de a teljes növényorvosi képzés alatt nyújtott szakmai segítségéért, kedvességéért és lelkiismeretességéért. Továbbá köszönettel tartozom neki, hogy felkeltette az érdeklődésemet a témával kapcsolatban és általa egy másik szemszögből is megismerhettem szeretett élőhelyem adottságait.

Köszönetemet fejezem ki társ konzulensemnek, Dr. Varga Zsuzsannának sok éves figyelmességéért, támogatásáért és kedves szavaiért.

Megköszönöm mind a Növénykórtani Tanszék, mind pedig a Szőlészeti Tanszék tanárainak és munkatársainak hozzájárulását szellemi fejlődésemmhez.

Végül szeretném megköszönni a családomnak, hogy általuk olyan helyhez kötnek a gyökereim, amely több szempontból is egyedülálló.

Varga Aliz Zsófia

## 9. Irodalomjegyzék

- Alkonyi, L. (2004): *Tokaj - Dűlőmitológia*. Budapest: Spread Bt.
- Bényei, F. – Lőrincz, A. – Sz. Nagy, L. (1999): *Szőlőtermesztés*. Budapest: Mezőgazda Kiadó.
- Botos, E. P. (2016): *A bor piaca és gazdaságtana*. Budapest: Bor–Kép Bt.
- BT - *Beta-tubulin - Botryotinia fuckeliana* (Noble rot fungus) | UniProtKB | UniProt [évszám nélkül].  
Elérhető: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A385HCR9/entry> [Letöltve: 2023.03.27].
- Ciliberti, N. – Fermaud, M. – Roudet, J. – Languasco, L. – Rossi, V. (2016): Environmental effects on the production of *Botrytis cinerea* conidia on different media, grape bunch trash, and mature berries: Sporulation patterns in *Botrytis cinerea*. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 22.  
<https://doi.org/10.1111/ajgw.12217>
- De Cal, A. – Melgarejo, P. – Magan, N. (szerk.). (2020): *How research can stimulate the development of commercial biological control against plant diseases*. Cham: Springer.
- Decanter, S. (2009, november 6): *Charles Darwin on wine*. Decanter. Elérhető: <https://www.decanter.com/features/charles-darwin-on-wine-246583/> [Utolsó megtekintés: 2023.03.27].
- Druzsín, J. (2020): *A Zempléni-hegység: útikalauz*. Elérhető: <https://mek.oszk.hu/20300/20399/20399.pdf> [Letöltve:2023.03.28.]
- Fekete, É. – Fekete, E. – Irinyi, L. – Karaffa, L. – Árnyszi, M. – Asadollahi, M. – Sándor, E. (2011): Genetic diversity of a *Botrytis cinerea* cryptic species complex in Hungary. Elérhető: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S094450131100098X> [Letöltve: 2023.04.05]
- Fillinger, S. – Elad, Y. (szerk.). (2016): *Botrytis – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*. Cham: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0>
- FMC (2020): Elérhető: <http://www.fmcagro.hu/s/ZlJB3l> [Letöltve: 2023.04.19].
- Fournier E, Giraud T, Brygoo Y. Partition of the *Botrytis cinerea* complex in France using multiple gene genealogies. *Mycologia* 2005;97:1251–67.
- Fournier, E. – Giraud, T. (2007): Sympatric genetic differentiation of a generalist pathogenic fungus, *Botrytis cinerea*, on two different host plants, grapevine and bramble: Sympatric genetic differentiation. *Journal of Evolutionary Biology* 21(1): 122–132. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01462.x>
- Hua, L. – Yong, C. – Zhanquan, Z. – Boqiang, L. – Guozheng, Q. – Shiping, T. (2018): *Pathogenic mechanisms and control strategies of Botrytis cinerea causing post-harvest decay in fruits and vegetables*. *Food Quality and Safety* 2(3): 111–119. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy016>
- Kállay, M. (2010): *Borászati kémia*. Budapest: Mezőgazda Kiadó. Elérhető: <https://docplayer.hu/4617408-Boraszati-kemia-kallay-miklos.html> [Letöltve:2023.03.28.]
- Kenderes, K. (2018): *A Tokaji-hegység egy kiválasztott mintaterületének talajtani jellemzése*. Miskolc. Elérhető: <http://midra.uni-miskolc.hu/document/29895/25792.pdf> [Letöltve:2023.03.28.]



- Kozma, P. (2000): *A szőlő és termesztése*. 2., átdolg. kiad. Budapest: Akadémiai Kiadó.
- Liddell, H. G. – Scott, R. – Jones, H. S. – McKenzie, R. (1996): *A Greek-English lexicon*. Rev. and augm. throughout. Oxford : New York: Clarendon Press ; Oxford University Press.
- Lőrincz, A. – Sz. Nagy, L. – Zanathy, G. (2015): *Szőlőtermesztés*. Budapest: Mezőgazda Kiadó.
- Luda, S. – Váradi, Z. (2016): *A Tokaji Borvidék helyzetértékelése*. Elérhető: <http://www.tbft.hu/wp-content/uploads/2016/06/A-Tokaji-borvid%C3%A9k-helyzet%C3%A9rt%C3%A9kel%C3%A9se.pdf>  
[Letöltve:2023.03.28.]
- Magyar, I. – Soós, J. (2016): Botrytized wines &ndash; current perspectives. *International Journal of Wine Research* Volume 8 29–39. <https://doi.org/10.2147/IJWR.S100653>
- Makra, L. – Vitányi, B. – Gál, A. – Mika, J. – Matyasovszky, I. – Hirsch, T. (2009): Wine Quantity and Quality Variations in Relation to Climatic Factors in the Tokaj (Hungary) Winegrowing Region. *American Journal of Enology and Viticulture* 60(3): 312–321. <https://doi.org/10.5344/ajev.2009.60.3.312>
- Molitor, D. – Baus, O. – Didry, Y. – Junk, J. – Hoffmann, L. – Beyer, M. (2020): BotRisk: simulating the annual bunch rot risk on grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling) based on meteorological data. *International Journal of Biometeorology* 64(9): 1571–1582. <https://doi.org/10.1007/s00484-020-01938-5>
- ms547 - *ATP-dependent RNA helicase - Botrytis pseudocinerea* | UniProtKB | UniProt [évszám nélkül]. Elérhető: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A0K0PN34/entry> [Letöltve: 2023.03.27].
- Naegele, R. P. – DeLong, J. – Alzohairy, S. A. – Saito, S. – Abdelsamad, N. – Miles, T. D. (2021): *Population Genetic Analyses of Botrytis cinerea Isolates From Michigan Vineyards Using a High-Throughput Marker System Approach*. *Frontiers in Microbiology* 12 660874. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.660874>
- Oláh, B. (2006): *Új elemek a fusarium/gibberella fajok genetikai kompatibilitásának szabályozásában*. Gödöllő. Elérhető: [http://phd.szie.hu/JaDoX\\_Portal/documents/document\\_3314\\_section\\_3716.pdf](http://phd.szie.hu/JaDoX_Portal/documents/document_3314_section_3716.pdf)  
[Letöltve:2023.03.28.]
- Országos Meteorológiai Szolgálat Elérhető: [https://www.met.hu/eghajlat/fold\\_eghajlata/eghajlatot\\_alakito\\_tenyezok/](https://www.met.hu/eghajlat/fold_eghajlata/eghajlatot_alakito_tenyezok/) [Utolsó megtekintés:2023.03.31.]
- Pei, Y. – Tao, Q. – Zheng, X. – Li, Y. – Sun, X. – Li, Z. – Qi, X. – Xu, J. – Zhang, M. – Chen, H. – Chang, X. – Tang, H. – Sui, L. – Gong, G. (2019): *Phenotypic and Genetic Characterization of Botrytis cinerea Population from Kiwifruit in Sichuan Province, China*. *Plant Disease* 103(4): 748–758. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-18-0707-RE>
- Plesken, C. – Pattar, P. – Reiss, B. – Noor, Z. N. – Zhang, L. – Klug, K. – Huettel, B. – Hahn, M. (2021): *Genetic Diversity of Botrytis cinerea Revealed by Multilocus Sequencing, and Identification of B. cinerea Populations Showing Genetic Isolation and Distinct Host Adaptation*. *Frontiers in Plant Science* 12 663027. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.663027>
- Rakonczás, N. (2014): *Szőlőtermesztés*. Elérhető: <https://mek.oszk.hu/15400/15416/15416.pdf>  
[Letöltve:2023.03.28.]

- rpb2 - DNA-directed RNA polymerase - *Botryotinia fuckeliana* (Noble rot fungus) | UniProtKB | UniProt [évszám nélkül]. Elérhető: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A221SNZ7/entry> [Letöltve: 2023.03.27].
- Saito, S. – Margosan, D. – Michailides, T. – Xiao, C.-L. (2016): *Botrytis californica*, a new cryptic species in the *B. cinerea* species complex causing gray mold in blueberries and table grapes in California. *Mycologia* 108. <https://doi.org/10.3852/15-165>
- Sándor, E. – Váczy Kálmán – Kövics, G. – Karaffa, L.: *Az egri borvidék botrytis cinerea populációinak genetikai jellemzése*. Elérhető: <http://real.mtak.hu/11295/1/1231663.pdf> [Letöltve:2023.03.28.]
- Vági, P. – Preininger, É. – Kovács M, G. – Kristóf, Z. – Bóka, K. – Böddi, B. (2013): *Növények és gombák szerveződése*. Elérhető: <https://tk.elte.hu/dstore/document/888/book.pdf> [Letöltve:2023.03.28.]
- Walker, A.-S. – Gautier, A. – Confais, J. – Martinho, D. – Viaud, M. – Le Pêcheur, P. – Dupont, J. – Fournier, E. (2011): *Botrytis pseudocinerea*, a New Cryptic Species Causing Gray Mold in French Vineyards in Sympatry with *Botrytis cinerea*. Elérhető: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO-04-11-0104> [Letöltve: 2023.04.13].
- Zanathy G. (2014, június 12): *Alanyfajták megválasztása a szőlőtermesztésben*. Agronapló. Elérhető: <https://www.agronaplo.hu/szakfolyoirat/2005/3/kerteszet/alanyfajtak-megvalasztasa-a-szolotermesztesben> [Letöltve: 2023.03.27].
- Zhou, Y. J. – Zhang, J. – Wang, X. D. – Yang, L. – Jiang, D. H. – Li, G. Q. (2014): Morphological and phylogenetic identification of *Botrytis sinoviticola*, a novel cryptic species causing gray mold disease of table grapes (*Vitis vinifera*) in China. Elérhető: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3852/13-032> [Letöltve: 2023.04.13].

## NYILATKOZAT

### a diplomamunka eredetiségéről és nyilvános vagy korlátozott hozzáféréséről

A hallgató neve: **Varga Aliz Zsófia**

A hallgató Neptun kódja: **KDF4LO**

A dolgozat címe: **Tokaj-Hegyaljáról származó *Botrytis cinerea* izolátumok molekuláris jellemzése**

A megjelenés éve: **2023.**

A konzulens tanszék neve: **Növénykórtani Tanszék**

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a Záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkor szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe.

Kelt: **Budapest, 2023. április 30.**

  
Hallgató aláírása

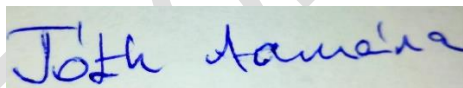
## KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

A **Varga Aliz Zsófia** (hallgató Neptun azonosítója: KDF4LO) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfólió áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: 2023. év 04. hó 30. nap



Belső konzulens

Varga Aliz Zsófia