

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

HEGYI ÁDÁM ISTVÁN
GÖDÖLLŐ
2024



Magyar Agrár – és Élettudományi Egyetem

A szőlő nemesrothadásának transzkriptomikai elemzése

Hegyí Ádám István

Gödöllő

2024

A doktori iskola

megnevezése: Környezettudományi Doktori Iskola

tudományága: Környezettudomány

vezetője: Csákiné Dr. Michéli Erika
egyetemi tanár, az MTA levelező tagja
MATE
Környezettudományi Intézet
Talajtani Tanszék

Témavezető(k): Dr. Cserháti Máttyás
egyetemi docens
MATE
Akvakultúra és Környezetbiztonsági
Intézet
Molekuláris Ökológiai Tanszék

Dr. Váczy Kálmán Zoltán
tudományos főmunkatárs, általános
rektorhelyettes
EKKE
Kutatási és Fejlesztési Központ

A doktori iskola- és a témavezetők jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Magyar Agrár – és Élettudományi Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárására bocsátható.

.....
Az iskolavezető
jóváhagyása

.....
A témavezető
jóváhagyása

.....
A témavezető
jóváhagyása

A MUNKA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK

A *Botrytis cinerea* egy jól ismert növénypatogén gomba, több mint ezerkétszáz különböző gazdanövényt képes fertőzni, ezért jelentős gazdasági károkat okozhat a mezőgazdaságban. A szőlő (*Vitis vinifera* L.) esetében kétarcú gombaként is emlegetik, hiszen kórokozóként az egyik legjelentősebb szőlőpatogén, emellett viszont a *Botrytis cinerea*-nak köszönhetően jön létre a nemesrothadás, melynek eredményeként készülhet el például a Tokaji aszúbor, amely a legkorábbi eredetvédett borászati termék a világon. A Tokaji aszúbor egyediségét a szemenként szüretelt aszúszemekből készülő magas minőségű alapanyag adja. Hazánkban aszúszemnek a teljesen töppedt, ugyanakkor húsos textúrájú, lilás színű, a bogyófelszínen nem mutatkozó gomba hifákkal átszőtt szőlőszemeket nevezi a szőlészeti-borászati gyakorlat.

A jelenleg érvényben lévő szabályozás alapján a Tokaj-Hegyalja borvidéken hat szőlőfajtából csaknem tíz különböző borászati terméket lehet előállítani, amelyből hét termék részben vagy teljesen aszúsodott alapanyagból készülhet.

Léteznek olyan borvidékek azonban, mint például Champagne Franciaországban, ahol a *Botrytis* legcsekélyebb mértékű megjelenése is nagyban rontja az ott készült termék, a pezsgő, érzékszervi tulajdonságait, ezért a gazdák sokszor gyakorlatilag a szürkepenész megjelenéséhez igazítják a szüret időpontját.

Az a tény, hogy a *Botrytis cinerea* megjelenése a világ különböző borvidégein ennyire változatos megítéléssel találkozik arra sarkallja a kutatókat, hogy minél részletesebben tanulmányozzák a gomba fertőzési folyamatát és a környezeti tényezőkkel való kapcsolatát. Jelenlegi ismereteink alapján a szürke- és nemesrothadás közötti különbségek a folyamat körülményeiben rejlenek, a nemesrothadást a gomba metabolizmusának biokémiai folyamatai és a szőlő töppedésének fizikai változásai együttesen eredményezik (Magyar, 2011), (Fournier, et al., 2013) (Blanco-Ulate, et al., 2015).

A *B. cinerea* szőlőbogyón kialakuló fertőzési folyamatát általában a következő szakaszokra bontják: behatolás a gazdaszervezet felületére, a gazdaszövet elpusztítása/elsődleges lézió kialakulása, a lézió kiterjedése/szöveti maceráció és sporuláció (van Kan, 2006). Nekrotróf és polifág kórokozóként a *B. cinerea* nem specifikus fitotoxinokat választ ki, amelyek a növények széles spektrumának sejtjeit pusztítják el. A fermentációs tápközegből

izolált számos metabolit közül (Collado, et al., 2007) a legismertebb a szeszkviterpén botrydial, ami a növényi fertőzés során termelődik, (Deighton, et al., 2001) klorozist és sejtösszeomlást idéz elő, ami a jelek szerint megkönnyíti mind a penetrációt, mind a kolonizációt (Colmenares, et al., 2002).

A szárazföldi életközösségek mikrobiális diverzitása rendkívül komplex nagymértékben megnehezíti az átfogó ismeretanyag megszerzését annak kölcsönhatásáról és a növényekkel való kapcsolatokról (Francioli, et al., 2018). A talajmikrobiom mellett kiemelt jelentőségű a növényeken élő mikrobiológiai életközösség tanulmányozása, főként az olyan álló kultúrák esetén, mint a szőlő vagy egyéb fás szárú évelő növények. A növényeken megtalálható mikrobák tanulmányozása lehetővé teszi azok növényre gyakorolt hatásának megismerését és bizonyos a növény életében jelentős változás indikátoraként is szolgálhatnak, mely növényvédelmi és növényegészségügyi jelentősége mellett a klímaváltozás növényekre gyakorolt hatásának részletei is feltárja a kutatók előtt (Francioli, et al., 2021).

A lektorált szakirodalom (Crandall, et al., 2020) ma tele van izgalmas új eszközökkel és technikákkal, amelyeket a biológia és az orvostudomány minden területén alkalmaznak. A transzkriptomika, a proteomika és újabban a metabolomika három olyan technika, amely hatással van a gombák növénykórtani jellemzésére. Egyenként alkalmazva e technikák mindegyike olyan adathalmazt generálhat, amely akár évekig lefoglalhat egy kutatócsoportot, emellett kombináltan alkalmazva lehetőségük van egy rendszer transzkripciós és transzlációs szintű átfogó vizsgálatára. A transzkriptomika, vagyis a kvantitatív génexpressziós profilok készítése vitathatatlanul a legszélesebb körben használt technika a gombák növénypatológiai szempontból történő jellemzésére.

A *Botrytis* által kiváltott növénybetegségeket az elmúlt 50 évben több tanulmány és összefoglaló mű is részletesen ismertette (Elad, et al., 2004). A védekezéssel kapcsolatos szakirodalom egy igen jelentős része a biológiai védekezés, amely biológiai és ökológiai hatásának teljes megértése esetén hatékony védekezési stratégiákat dolgozhatunk ki a kórokozóval szemben.

A legújabb laboratóriumi technológiák alkalmazásával a kutatók számos olyan ún. „omikai” eszközt fejlesztettek ki a *B. cinerea* elleni növényi válaszok és a gomba virulenciájának molekuláris jellemzésére, amelyek a transzkriptomikai (kódoló és nem kódoló RNS-ek teljes halmaza), proteomikai (genomból származó

fehérjék) és metabolomikai (sejtben, szövetben vagy szervben található összes metabolit) módszereken alapulnak és a nagy átteresztőképességű DNS és RNS szekvenálással valamint nagyfelbontású tömegspektrometriai és mágneses magrezonanciával (NMR) alkalmazva lehetővé teszi az ilyen adatok rendszerbiológiai szintre való fejlesztését (AbuQamar, et al., 2016).

A *Botrytis cinerea* által megfertőzött szőlőbogyó felszínének mikrobiális populációját és annak dinamikáját számos korábbi tanulmány vizsgálta (Viannini & Chilosi, 2013), (Magyar, 2011). A fonalgombák és élesztők mellett az egyik leginkább említésre méltó eredmény a *Starmerella bacillaris* (korábban *Candida zemplinina*) azonosítása Tokaji mintákról származó aszúbogyókról gyűjtött izolátumok esetében, mely élesztőfajt azóta a borászati gyakorlatban is használják kofermentációs fajként (Englezos, et al., 2017).

A nemesrothadás során két fontos tényező határozza meg a szőlőbogyó kémiai összetételét. Az egyik a víz elpárolgásából eredő az oldott anyagok koncentrációjának növekedése, a másik a *Botrytis cinerea* másodlagos anyagcseretermékeinek a megjelenése és felhalmozódása. A két tényezőt egészítik ki a szőlőbogyón élő egyéb mikrobák anyagcseretermékei, amelyek szintén jelentősek, gondoljunk csak az *Acetobacter* fajok által termelt ecetsavra vagy a *Penicillium* fajok okozta keserű ízt eredményező borhibákra.

Jelen munka során felvetett kérdések és a megállapított tézisek a tématerület ismeretanyagát új, gyakorlati jelentőségű eredményekkel egészítik ki, valamint kutatócsoportunk és a tudományos közösség tagjai számára új kutatások alapjául is szolgálhatnak.

Az az egyediség amely, a *Botrytis cinerea* és a borszőlő (*Vitis vinifera* L.) kapcsolatát jellemzi, miszerint világszerte az egyik legnagyobb termésvesztést okozó patogén, ám ezzel szemben, bizonyos speciális környezeti feltételek mellett kiemelkedő minőségű, magas hozzáadott értékkel bíró borászati alapanyagot képes létrehozni, lehetőséget ad a növény-gomba kapcsolatrendszer komplexebb vizsgálatára így több részletre kiterjedő képet kaphatunk a fertőzési folyamat mikrobiológiai, fiziológiai, fizikai és kémiai lépéseiről. Munkánk során több egyszerű hipotézist állítottunk föl annak érdekében, hogy ezek igazolása vagy cáfolata lépésről lépésre adjon információt a szürkerothadás és az aszúsodás elemeiről, így megérhetővé válnak

nem csak a mikrobiológiai és növényfiziológiai összefüggések, hanem az azokat meghatározó külső körülmények is.

A kutatásunk célja az értekezésben megfogalmazott hipotézisek vizsgálata és megerősítése. Ennek érdekében az alábbi kutatási célokat fogalmazzuk meg:

- 1) Az aszúsodás és a szürkerothadás, a két ellentétes kimenetelű folyamat közti transzkriptomikai különbségek meghatározása
- 2) A szőlőbogyó textúra és a *Botrytis cinerea* által expresszált szénhidrátbontó gének közti összefüggések elemzése
- 3) A *Botrytis* mellett további mikrobák szerepének leírása az aszúsodás és a szürkerothadás során
- 4) Ezen mikrobák hatásának meghatározása az aszúborok aromaanyag-összetételére

ANYAG ÉS MÓDSZER

A mintavétel a Tokaj-Hegyalja borvidéken található Mád község határában fekvő Betsek dűlőben helyezkedik el. A dűlő a Mád határában található 42 első osztályú dűlő közül az egyik legkiválóbbként van számontartva.

A mintavételi területek két szőlőtáblában helyezkedtek el, melyek közül az északabbra fekvő táblában furmint, még a délebbre fekvő táblában hárslevelű szőlőfajta található. Mindkét szőlőterület 3 m x 1 m térállásban lett telepítve Teleki-Kober 5BB rezisztens alanyfajta. A furmint fajta T85 klóntípusú a hárslevelű T311 típusú. Művelésmódját tekintve mindkét tábla középmagas kordonművelésű 4-5 termőalappal, melyek már több évre visszamenőleg alakítottak ki és 2 rügyes csapmetszéssel dolgoznak rajta.

A mintavétel több időpontban és több vizsgálati célra történt, két évjárat folyamán gyűjtöttünk mintát 2016-ban és 2017-ben. Fontos azt kiemelni, hogy a mintagyűjtési időpont megválasztásakor még nem lehetünk biztosak abban, hogy az adott évjáratban egyáltalán lesz e megfelelő mennyiségű és minőségű aszúsodás, így a szükségesnél több mintagyűjtési időponttal számoltunk, amelyet az időjárás alakulásával minden esetben aktualizáltunk. A pontos mintagyűjtési időpontokat az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: a mintagyűjtések pontos dátuma, a gyűjtött minták típusai és azok felhasználása

Mintagyűjtések	Pontos dátum	Gyűjtött mintatípusok	Ismétlések száma
2016			
szeptember	szeptember 8.	I, II, III, IV, VI fázis	5-5 biológiai ismétlés RNS és DNS amplikon szekvenáláshoz, 100 ismétlés textúra elemzéshez
október	október 11.	I, II, III, IV, VI fázis	5-5 biológiai ismétlés RNS és DNS amplikon szekvenáláshoz, 100 ismétlés textúra elemzéshez
november	november 10.	I, II, III, IV, VI fázis	5-5 biológiai ismétlés RNS és DNS amplikon szekvenáláshoz, 100 ismétlés textúra elemzéshez
2017			
szeptember	szeptember 7.	I, II, III, IV, VI fázis	5-5 biológiai ismétlés RNS és DNS amplikon szekvenáláshoz, 100 ismétlés textúra elemzéshez
október	október 10.	I, II, III, IV, VI fázis	5-5 biológiai ismétlés RNS és DNS amplikon szekvenáláshoz, 100 ismétlés textúra elemzéshez
november	november 14.	I, II, III, IV, VI fázis	5-5 biológiai ismétlés RNS és DNS amplikon szekvenáláshoz, 100 ismétlés textúra elemzéshez

A szőlőbogyók textúra tulajdonságainak méréséhez a TAX2i típusú (Stable Micro System, Surrey, Egyesült Királyság) textúraelemző készüléket használtunk HDP 90-es platformmal és 30 kg-os maximális terheléssel.

A begyűjtött és mélyfagyasztva tárolt szőlőbogyókat sterilizált kerámia dörzsmozsárban folyékony nitrogén fürdőben porrá őröltük, majd a porokat mintánként 2 ml-es eppendorf csőben a felolvadás elkerülésével visszahelyeztük -80 °C-ra. A minták

leőrlését követően a teljes DNS-t egy növényi DNS kivonására fejlesztett kivonó készlettel, Qiagen DNEasy Plant mini kit-tel (Qiagen GmbH., Hilden, Németország) kivontuk.

A teljes RNS kivonáshoz egy kevésbé korszerű ám nagyon hatékony módszert fejlesztettünk tovább, amellyel viszonylag hatékonyan és jó minőségben tudtunk RNS-t kivonni mintáinkból. Az RNS kivonatolás főbb lépései a következők voltak:

- Cetromónium-bromidos (CTAB) extrakció Polivini-pirrolidon (PVP-40) és spermidin adalékkal
- Merkaptoetanolos denaturáció
- Kloroformos izoamilalkoholos extrakció
- Nátriumacetátos tisztítás
- TE-pufferes tisztítás
- Lítium-kloridos tisztítás
- DN-ázos emésztés

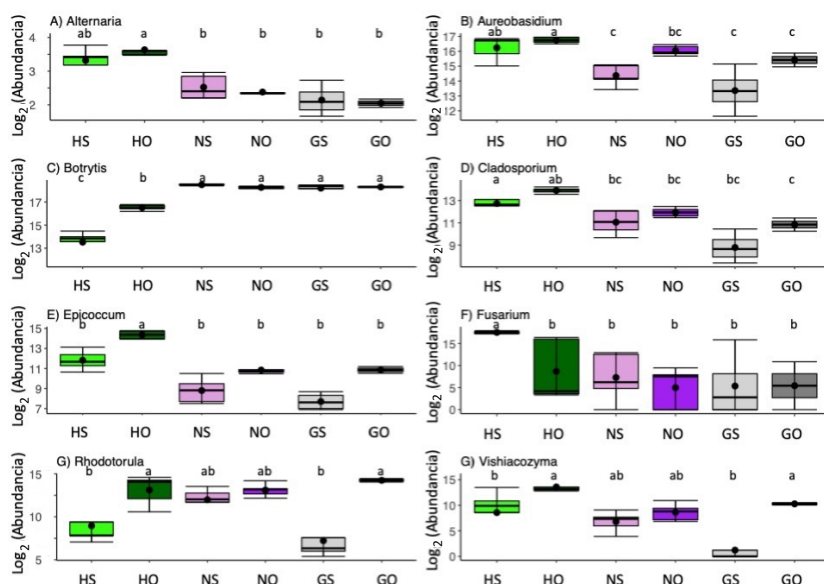
A kivont DNS-t újgenerációs ampikon szekvenálással egy megbízás alapján a gödöllői Eurofins BIOMI Kft. végezte. A kivont RNS-t újgenerációs metatranszkriptomikai szekvenálással egy megbízás alapján a debreceni UD Genomed Kft végezte, Illumina NextSeq500 platformon, 14 Mread/minta biztosításával. A nyers DNS-szekvenciákat az R szoftverkörnyezetben (R Development Core Team 2023) implementált dada2 csomaggal (Callahan, et al., 2016) dolgoztuk fel, amelyet a DNS-szekvenciák finom variációjának felismerésére terveztek.

Az RNS read-ek minőségét a FastQC v0.11.5 (Babraham Bioinformatics, Cambridge, Egyesült Királyság) segítségével értékeltük. Ezután a szekvenálási read-eket a minőségük szerint szűrtük a FASTX-TOOLKIT segítségével. Ezt követően a nagy lefedettségű read-ek alacsony abundanciájú fragmentumait a eltávolítottuk. Az így kapott jó minőségű read-eket a *B. cinerea*, *A. alternata*, *A. pulullans*, *E. nigrum* és *R. graminis* referencia genomhoz igazítottuk (van Kan, et al., 2017), majd egy Python szkript segítségével a Salmon 1.3.0 verzióját használva (Patro, et al., 2017) a megfelelő génekre szabdaltuk. Az alapvető statisztikai elemzéseket a R programkörnyezetben R Studio felhasználói felületen végeztük (R version 4.2.0, R Studio „Prairie Trillium” 2022.02.1). A funkcionális génösszetétel változásainak összehasonlítására az aszús fázisok között páros differenciális expressziós (DE) elemzést végeztünk az I.-II., a II.-III., illetve a III.-IV. fázisok között a DESeq2 R csomag segítségével (Love, et

al., 2014). Az expresszált géneket tartalmazó adatsort hálózatelemzési módszerrel modulokba soroltuk. A *B. cinerea* és egyéb kiválasztott gombák összes funkcionális génjének elemzésére, valamint a funkcionális gének expressziós szintjének a bogyótextúra adatokkal történő összevetésére a WGCNA R csomag (Langfelder & Horvath, 2008) segítségével súlyozott génkoexpressziós hálózatelemzéssel (Weighted Gene Coexpression Network Analyses, WGCNA) vizsgáltuk. A kiválasztott hub-géneket funkcionálisan is megvizsgáltuk, hiszen a transzkriptomikai koexpressziós hálózatban ezek fontos szerepet töltenek be. A gének funkciók azonosításához a Uniprot adatbázist használtuk (UniProt, 2015).

EREDMÉNYEK ÉS AZOK MEGBESZÉLÉSE

Az aszús és szürkerothadt bogyókon DNS ampikon szekvenálással meghatározott gombaközösségeket jellemezzük, mely eredményeket a továbbiakban arra használjuk, hogy kiválaszthassuk azokat a legabundánsabb fonalgombákat és élesztőgombákat amelyek esetében transzkriptomikai elemzést végzünk.



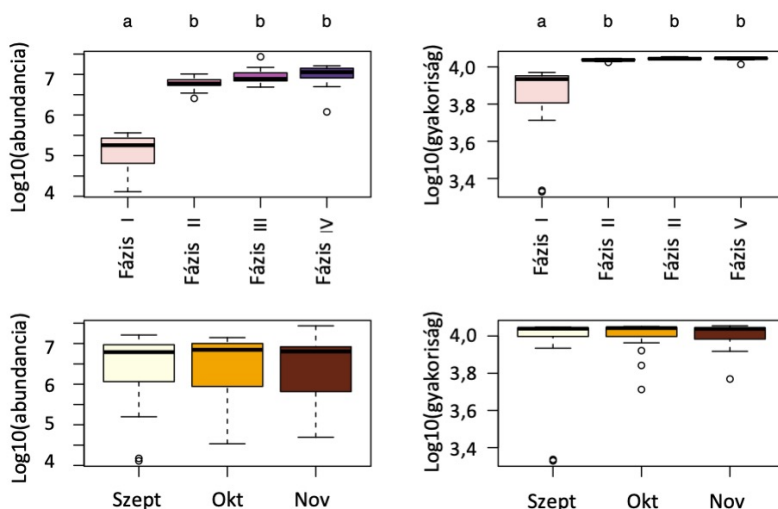
1. ábra: A DNS ampikon szekvenálási adatok során vizsgált három fázis (egészséges – H, nemesrothadt – N és szürkerothadt – G) és két hónap (szeptember – S és október – O) bogyóiban meghatározott, a nyolc legmagasabb összábundanceiával rendelkező nemzetségek abundancia eloszlása (kettes alapú logaritmusos skálán ábrázolva). A dobozok fölötti kisbetűk a Tukey HSD teszt során meghatározott szignifikancia csoportokat jelölik.

A DNS ampikon szekvenciákat ASV-kre, azaz ampikon szekvencia variánsokra (ampikon sequence variant) osztottuk. Az egyedi ASV-eket meghatároztuk, mely nemzetséghez tartoznak, így kaptunk egy gombanemzetségekre osztott adathalmazt, melynek az egyes mintatípusokhoz (rothadási típus és mintagyűjtési hónap) tartozó abundanciájának kettes alapú logaritmusát doboz-diagramon ábrázoltuk (1. ábra).

Ezek alapján önkényesen úgy döntöttünk, hogy a *Botrytis* mellett a későbbi transzkriptomikai adatok vizsgálatához kiválasztunk két

fonalgomba és két élesztő nemzetséget, amelyekből megfelelő referencia genom (GTF fájl) áll rendelkezésre nyilvános adatbázisokban (NCBI) és abundanciájuk a lehető legmagasabb. Így esett a választás az *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Epicoccum* és *Rhodotorula* nemzetségekre.

A következő részben rátérünk a kivont és szekvenált teljes RNS adatokból kapott eredmények tárgyalására. Első körben az aszúsodás folyamatát, tehát az I-IV fázisokat vizsgáljuk, azon belül is a *Botrytis cinerea* referenciagenomjához annotált géneket. A *B. cinerea* transzkriptek abundanciájának és gyakoriságának eloszlása szignifikáns növekedést mutatott az aszúsodás I. fázisa (egészséges) és az összes többi fázisa (II, III, IV) között, de későbbi fázisok között nem volt szignifikáns változás.

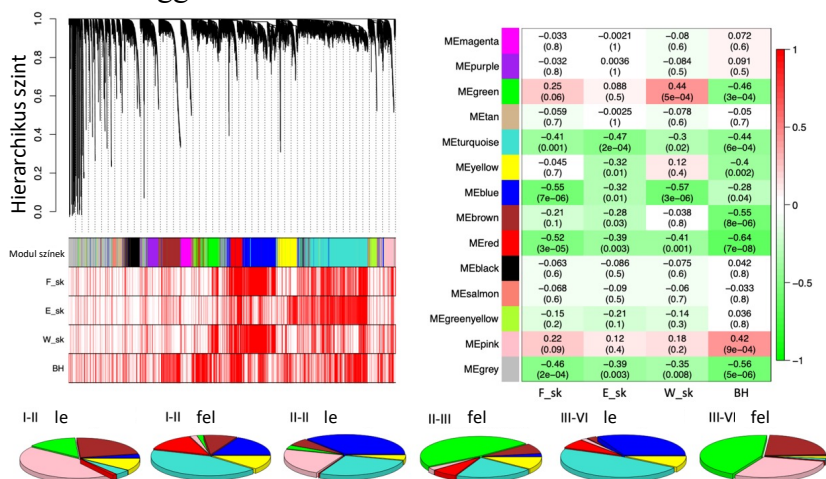


2. ábra: Az ábrán a *Botrytis cinerea* expresszált géneinek abundancia-összegét láthatjuk a különböző aszúsodási fázisú és mintagyűjtési időpontú mintacsoportokban. Megfigyelhető, hogy az I. fázis és a többi fázis között van kizárólag szignifikáns eltérés, mind az abundanciát, mind a gyakoriságot figyelembe véve.

Az NMDS módszerrel ábrázolt ordinációs diagrammok erős elkülönülést mutattak az aszúsodási fázisok között, míg a mintavételi időnek kisebb hatása volt a minták közötti elkülönülésre. A PERMANOVA-teszt erős elkülönülést mutott az aszúsodási fázisok között, míg a mintavételi időnek kisebb hatása volt. A variancia 26%-át a fázisok ($F = 19,712$, $P < 0,01$, $r^2 = 0,26$),

míg 6,6%-át a mintavételi időpont ($F = 4,01$, $P < 0,01$, $r^2 = 0,066$) határozta meg.

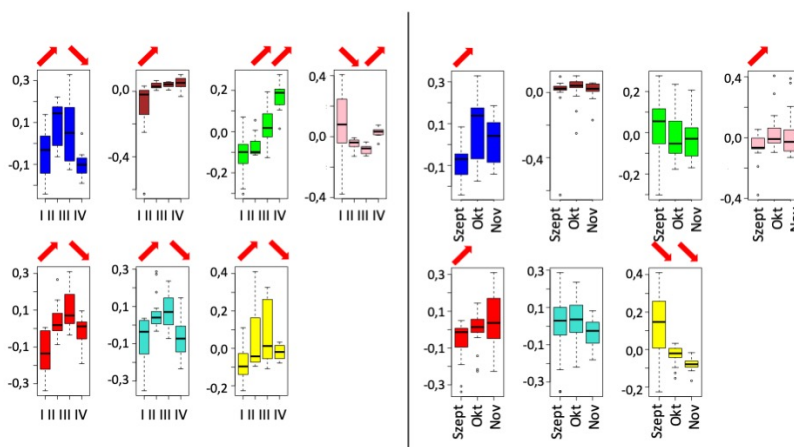
A következőkben az aszúsodás során expresszált *Botrytis cinerea* gének alkotta koexpressziós hálózat tulajdonságait ismertetjük, valamint összevetjük azokat a bogyókon mért textúra paraméterekkel. A *Botrytis cinerea* által expresszált gének alkotta hálózat belső szerkezetének megismeréséhez WGCNA klaszterezést végeztünk, hogy a funkcionális gének együtt történő kifejeződését modulokba soroljuk. A modulok közül a *turquoise*, *blue brown* és *red* modulok mutatták a legjelentősebb negatív korrelációt a textúra paraméterekkel, amint azt a 3. ábra ún. „hőterkép” része mutatja. A *blue*, *brown*, *green*, *pink*, *red*, *yellow* and *turquoise* modulokat ún. NRCM moduloknak nevezzük, amelyek az aszúsodási fázisok vagy mintagyűjtési hónapok által meghatározott, azzal szemléletes módon összefüggést mutató sajátgén-kifejeződési profilt mutattak míg a többi hat modul sajátgén-kifejeződési profilja elkülönült és nem volt összefüggésbe hozható.



3. ábra: A *Botrytis cinerea* gének négy nemes rothadási fázisában kifejezett koexpressziós hálózatának elemzése. A baloldali felső ábrán látható hierarchikus klaszterezési fa a gének korrelációja alapján lett konstruálva, amely alatt a funkcionális géneket 13 modulba rendezése található, 100 vagy annál magasabb számú modul nagysággal és 0,25 koexpressziós küszöbértékkel. A texturális paramétereknek megfelelő piros sávok szignifikáns ($p < 0,05$) korrelációt jeleznek a funkcionális génekkel. A jobb oldali hőterképen a 13 modul sajátgénjének és a különböző textúra paraméterek (F_sk: bogyóhéj keménység, E_sk:

bogyóhéj rugalmasság, W_sk: bogyóhéj átszakításához szükséges munka, BH: bogyókeménység) korrelációja és zárójelben a hozzá tartozó p-értékek láthatók. A kördiagramok a differenciális génexpressziós eredményeket szemléltetik, azaz hogy a különböző szomszédos fázisok között fel- vagy leszabályozott funkcionális gének milyen arányban oszlanak meg az egyes NRCM modulok között. Az ábra a WGCNA programcsomag beépített ábrázoló szkriptjével lett készítve, melyben nem lehetséges az angolban használatos tizedespontot tizedesvesszőre lecserélni, így ezen az ábrán a decimálist tizedespont jelöli.

A meghatározott NRCM modulokhoz tartozó sajátgén expressziós szinteket ANOVA és Tukey HSD teszt segítségével elemeztük, hogy meghatározzuk mely fázisok vagy mintagyűjtési hónapok között nő vagy csökken szignifikánsan ez az érték (4. ábra).



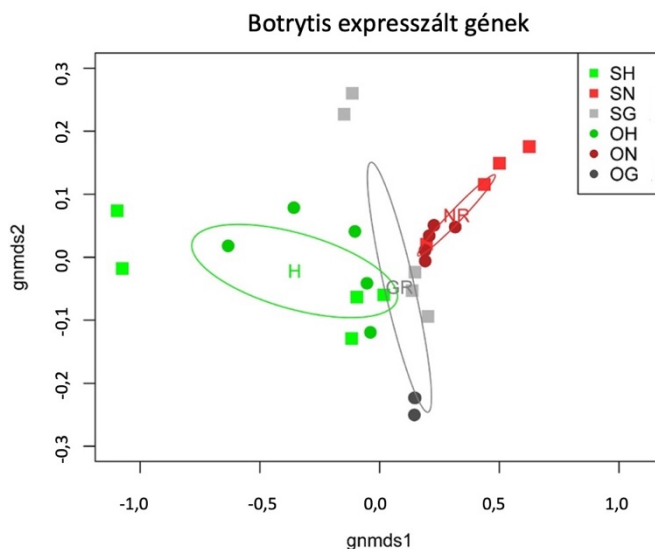
4. ábra: A modulokhoz tartozó sajátgének abundancia értékeinek eloszlása az aszúsodási-fázisok (balra) és a mintavételi időpontok (jobbra) között az NRCM modulok tekintetében egyirányú ANOVA-modellek alkalmazásával. Piros nyilak jelzik a szomszédos fázisok vagy hónapok közötti szignifikáns növekedést vagy csökkenést.

Az összes NRCM valamennyi jelentős fázisátmenetében számos feldúsult gént és útvonalat azonosítottunk. Ezek közül a legtöbb a szénhidrát- és a fehérje-anyagcseréhez kapcsolódott, amelyek mindkettő fontos szerepet játszik az aszúsodás folyamata során. A *brown* modul I-II. fázisában felfelé szabályozott gének közül a 17 feldúsult útvonal közül a "szénanyagcsere", a "fruktóz- és

mannóanyagcsere", a "glikolízis" és a "butanoát-anyagcsere" géneket azonosítottuk. A *red* modulban az I-II. fázisból felszabályozott gének jelentősen feldúsultak a "Keményítő- és szacharóz-anyagcsere" esetében. A *turquoise* modulban az I-II. fázistól felfelé szabályozott gének a "Galaktóz-anyagcsere", a "Glikolízis", az "Egyéb glikán anyagcsere" és a "Keményítő- és szacharóz-anyagcsere" tekintetében dúsultak fel. A szénhidrát-anyagcsere szintén feldúsult a III. és a IV. fázis között a botritizálódási folyamat végén, ahol a *green* modulban a felszabályozott gének a 'Szén-anyagcsere' és a 'Glikolízis', a *pink* modulban pedig a 'Szén-anyagcsere' és a 'Piruvat-anyagcsere' génjei dúsultak. A *brown* modul I. fázisától a II. fázisig a fehérje-anyagcserevel kapcsolatos, felfelé szabályozott génekben olyan feldúsult anyagcsereútvonalak találhatóak, mint az "Alanin- és aszpartám-anyagcsere", a "Triptofán-anyagcsere", a "Valin-, leucin- és izoleucinanyagcsere", valamint az "Ubikvitin közvetítette proteolízis". Az aminosav-anyagcserehez tartozó útvonalakon kívül a "ketontestek" útvonal is gazdagodott az I-II. fázisú *brown* modul felszabályozott génjei között. A *green* modul tekintetében a fehérje-anyagcserehez tartozó olyan feldúsult útvonalakat azonosítottunk, mint az "Alanin és aszpartám anyagcsere", a "Béta-alanin", a "Cisztein és metionin anyagcsere" és a "Glicin, szerin és treonin", amelyek a nemesrothadási folyamatok későbbi, III. és IV. fázisa során feldúsultak. A szénhidrát- és fehérje-anyagcsere mellett a legtöbb modulban a másodlagos anyagcseretermékek képződéséért felelős útvonalakat is kimutattuk. Ezek a vegyületek szerepet játszanak az aszúrbogyó borászati jelentőségű kifejlődésében, például az aromás vegyületek képződésében és az antibiotikus aktivitásban. Például a *pink* modulban mindkét jelentős fázisátmenet (az I. fázisból a II. fázisba, illetve a II. fázisból a III. fázisba felszabályozott gének) a "kén anyagcserejéhez" kapcsolódó, jelentősen feldúsult útvonalakat tartalmazott. A *brown* modulban az "Alkaloid bioszintézis" útvonal az I. fázisból a II. fázisba történő felszabályozott gének között dúsult fel. Ugyanez az útvonal a *green* modulban a III. és IV. fázis között felfelé szabályozott gének között is gazdagodott. A feldúsult útvonalak teljes listája a 3. számú mellékletben található.

A korábbiakkal szemben a következő részben az aszúsodás folyamatának vizsgálatáról rátérünk a nemes és szürkerothadás közötti különbségek vizsgálatára. Ebben a fejezetben is kizárólag a *Botrytis cinerea* géneket vizsgáljuk. Az előzőekhez hasonlóan először mennyiségi elemzéseket végzünk (ANOVA és NMDS) majd rátérünk a differenciális expressziós, gén-ontológiai és további funkcionális elemzésekre.

Az egészséges szőlőbogyóból izolált RNS esetében a *Botrytis* gének abundanciája mindkét rothadási típushoz képest alacsonyabb volt. Ez a trend igaz a két vizsgált mintavételi időpontra, szeptemberre és októberre is. Ez azt mutatja, hogy csupán a gének abundanciájának vagy gazdagságának összegét vizsgálva a két rothadási típus között nem állapíthatunk meg különbséget és a mintavételi hónapok között sincs szignifikáns eltérés. Ezt az 5. ábráról leolvasható megállapítást a PERMANOVA teszt is megerősítette, ahol a *B. cinerea* funkcionális génjeinek abundanciája szignifikánsan elkülönülést mutatott mind a bogyórothadás típusok (beleértve az egészséges esetet is), ($F = 8,8097$, $p < 0,01$, $r^2 = 0,42629$), mind a mintavételi hónapok ($F = 2,0978$, $p < 0,01$, $r^2 = 0,06518$) esetében.



5. ábra. A *Botrytis cinerea* funkcionális génjeinek NMDS-elemzése egészséges (H), nemesrothadt (N) és szürkerothadt (G) bogyókban, szeptember (S) és október (O) hónapokban. Az egyes mintatípusok ordinációjának középpontjától mért standard eltérést ábrázoló ellipszisek nem fednek át, vagy csak kevés

átfedést mutatnak, ami a kifejezett funkcionális gének összetételének erős különbségét jelzi a bogyótípusok és hónapok között.

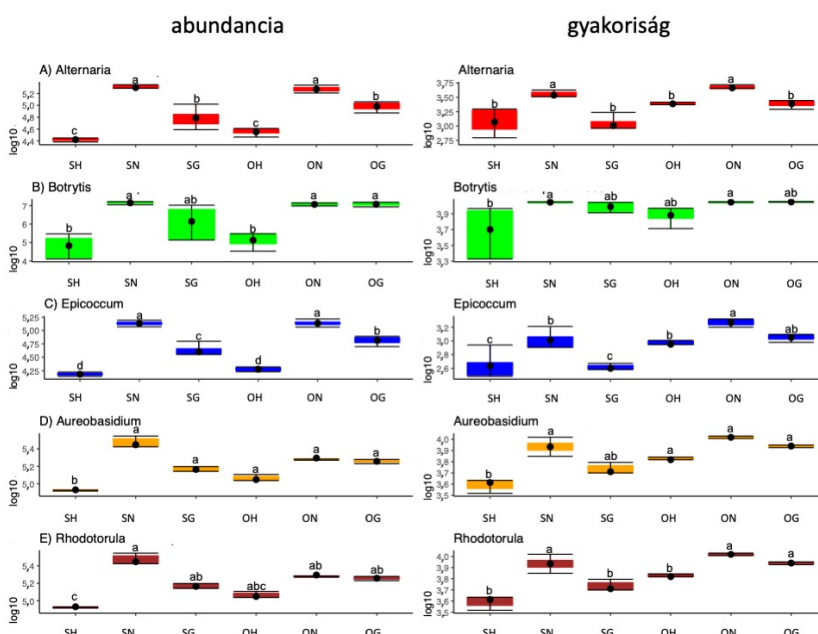
A szeptember és október hónapokban begyűjtött bogyóminták esetében gén-ontológiai és útvonal feldúsulási vizsgálatokat végeztünk. A szeptember és október között megosztott 600 felszabályozott nemesrothadás esetében azonosított gén alapkészletének 18 szignifikánsan feldúsult GO-ja közül egyharmad az anyagcserehez kapcsolódott, amelyek közül néhány a nemesrothadás aktivitáshoz kapcsolódik, beleértve a "Celluláris fehérje anyagcsere-folyamat" és a "Fehérje anyagcsere-folyamat" (3. táblázat). A 628 génből álló, felszabályozott szeptember-októberi közös GR magprofilban csak három GO-t találtunk szignifikánsan feldúsulva, de ezek közül egyiket sem találtuk olyan anyagcsere- vagy fizikai változásokhoz kapcsolódónak, amelyek a nemesrothadáshoz kapcsolódnak. A felfelé szabályozott *Botrytis* gének készletében több feldúsult útvonal azonosítása megfelel több GO-kifejezés azonosításának. A *B. cinerea* nemesrothadás génprofiljában több feldúsult útvonalat azonosítottunk. Ezek közül a három legjobban feldúsult útvonal a "Riboszómális folyamatok", a "Metabolikus útvonalak" és a "Másodlagos metabolitok bioszintézise" volt. A GO-gazdagodási elemzésekhez hasonlóan a felfelé szabályozott GR-gének alapkészletéhez nem azonosítottunk feldúsult útvonalakat.

A virulencia BLAST elemzések (Cuzick, et al., 2023) hat virulencia faktor jelenlétét mutatták ki a nemesrothadás során differenciálisan expresszált génprofilban, míg a szürkerothadás esetében kilencet találtak (6. táblázat) Az azonosított NR virulencia faktorok különböző mechanizmusokkal, többek között a növényi gazdaszervezet védelmi válaszainak megkerülésével (BCIN_03g03390) járulnak hozzá a *B. cinerea* azon képességéhez, hogy kolonizálja a szőlőbogyó héját (Rolke, et al., 2004), (BCIN_09g02390) (Rui & Hahn, 2007), valamint, részt vesz a sejtfal lebontásában (BCIN_08g04530) (Ren, et al., 2018) (BCIN_16g03950) (Peterson & Nevalainen, 2012). A szürkerothadás virulenciaprofilja főként oxidoreduktázokból állt, amelyek védelmet nyújtanak a gazdaszervezet védelmi mechanizmusai ellen (BCIN_02g07640, BCIN_12g06380, BCIN_05g03550, BCIN_01g07190), (Yu, et al., 2020) emellett a membrántranszportban részt vevő gének (BCIN_01g09910) (Hayashi, et al., 2002), a sejtfal lebontásához hozzájáruló gének

(BCIN_14g00850) (Micheli, 2001), valamint a növényi szöveteket támadó gének, nevezetesen a BCIN_15g03390 (Schumacher, 2012) és a fitotoxin-szintézis génjei BCIN_01g00060 (Colmenares, et al., 2002), (Tani, et al., 2005) és BCIN_12g06380 (Pinedo, et al., 2020) is szignifikánsan feldúsultak bizonyultak.

A következő részben a korábban kiválasztott további fonalgombák és élesztőgombák szerepét vizsgáljuk. Elsőként a nemes és a szürkerothadásos minták közötti különbségeket elemezzük először mennyiségi szempontból (ANOVA, NMDS), majd funkcionális szempontból is (differenciális génextpresszió, útvonal feldúsulás, gomba-növény kapcsolatok).

Alternaria esetében az abundanciát vizsgálva mindhárom bogyótípus mindkét hónapban elkülönül egymástól, míg a gyakoriság eloszlását vizsgálva az egészséges bogyó és a szürkerothadás esetében nem szignifikáns ez a különbség. *Botrytis* esetében az egészséges bogyó transzkript eloszlása szignifikáns különbséget mutat mindkét rothadási típussal szemben. Az *Epicoccum* az *Alternaria*hoz hasonló képet mutat. *Aureobasidium* esetében az egészséges bogyókon meghatározott transzkriptek különülnek el jól a két rothadási típus esetétől, míg *Rhodotorula* esetében a *Botrytis*hez hasonló eloszlásokat kaptunk (6. ábra).



6. ábra. A fonalgombák A) *Alternaria alternata*, B) *Botrytis cinerea*, C) *Epicoccum nigrum* és az élesztőgombák D)

Aureobasidium pullulans és E) *Rhodotorula graminis* transzkript abundancia és gyakoriság értékek összehasonlítása az egészséges bogyó (H), a nemesrothadt bogyó (NR) és a szürkerothadt bogyó (GR) típusai között szeptember (S) és október (O) hónapokban ANOVA segítségével. A Tukey-féle HSD-tesztekkel számított páros különbségeket a különböző felső indexek, latin kisbetűk jelzik.

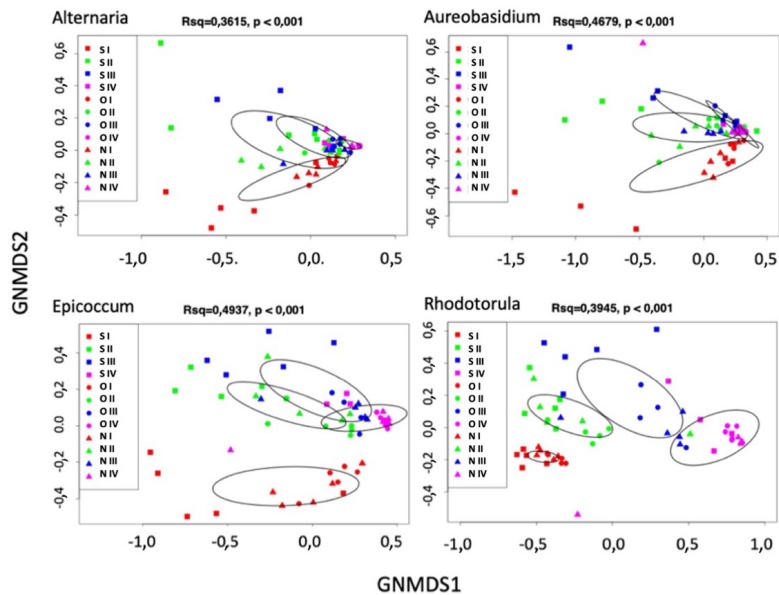
Az *A. alternata*, a *B. cinerea*, az *E. nigrum* és az *A. pullulans* felfelé szabályozott mindkét vizsgált hónapban differenciálisan expresszáldó nemesrothadt bogyókban azonosított génkészletben az anyagcserehez kapcsolódó feldúsult génontológiai kifejezéseket azonosítottunk, amelyek közül néhány a nemesrothadás kialakulásának folyamatával és a sejtosztódással kapcsolatos. Az *A. alternata* esetében ez hat, főként a nitrogén-anyagcserehez kapcsolódó génre, mint például a "Peptid anyagcsere-folyamat", és olyan sejtfolymatokra, mint például a "Transzláció". A *B. cinerea* génkészletében 18 génontológiai kifejezést azonosítottunk, amelyek egyharmada metabolikus tevékenységre vonatkozott, beleértve a "Celluláris fehérje-anyagcsere-folyamat" és a "Fehérje-anyagcsere-folyamat" kifejezéseket. Az *E. nigrum* esetében is három feldúsult kifejezést azonosítottunk, de ezek főként olyan celluláris folymatokhoz kapcsolódtak, mint például a "Sejten belüli transzport". Az *A. pullulans* esetében a tizenkét feldúsult kifejezés főként a zsírsav-anyagcserehez kapcsolódott, mint például a "Zsírsav-anyagcsere-folyamat", "Zsírsav-bioszintézis-folyamat" és "Monokarbonsav-anyagcsere-folyamat".

A virulencia faktorokat azonosító BLAST-ot tekintve három gént azonosítottunk az *A. alternata* felszabályozott génkészletében, köztük egy 1,3,8-trihidroxi-naftalin redukáz (CC77DRAFT_528893), egy 26S proteaszóma-szerű fehérje szabályozó alegységet (CC77DRAFT_968321) és egy mitogén-aktivált fehérje kináz (CC77DRAFT_1016542). Három gént azonosítottunk az *E. nigrum* felfelé szabályozott nemesrothadásos génkészletében, köztük egy azonosítatlan fehérjét (B5807_08936), egy PKS_ER domént tartalmazó fehérjét (B5807_02028), valamint egy 5-aminolevulinát-szintáz (5-aminolevulinát-szintáz). Végül egyetlen virulencia-gént, nevezetesen egy ATP-függő RNS-helikáz, az eIF4A-t (RHOBADRAFT_46472) azonosítottuk az *E. nigrum* felszabályozott szürkerothadásos génkészletében. Az RNS-helikázok az RNS-t érintő valamennyi folymathoz kapcsolódnak a transzkripciótól a bomlásig (Adbelkri, et al., 2020), így ennek a

gének fontos szerepe lehet a stresszes környezethez való alkalmazkodás szabályozásában *R. graminis* esetében.

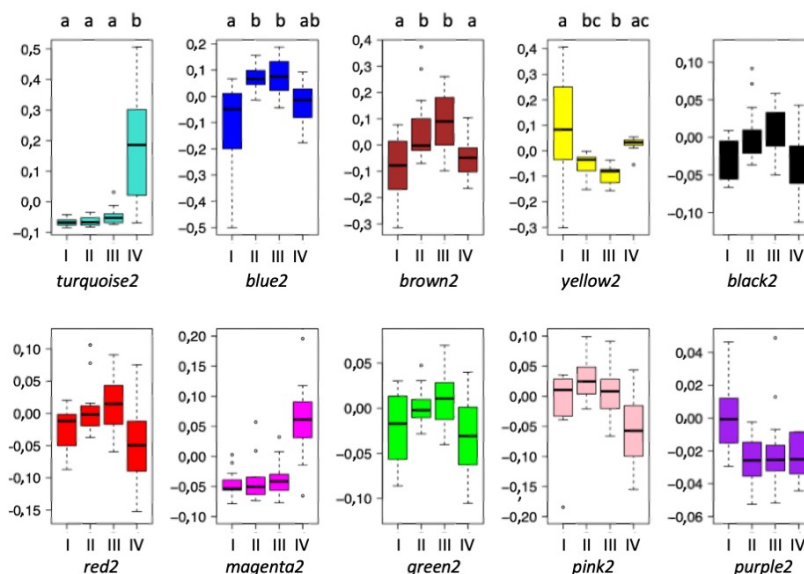
A következő szakaszban az aszúsodás folyamata során, azaz az I-IV fázisú mintákban azonosított géneket vizsgáltuk, méghozzá azokat, amelyeket a kiválasztott 4 gombanemzetség (*Alternaria*, *Aureobasidium*, *Epicoccum*, *Rhodotorula*) egy-egy fajának referenciagenomjához annotáltunk.

A vizsgált nemzetségek (*Alternaria*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Epicoccum* és *Rhodotorula*) fázisának génextpressziós eloszlásában az ordinációs ábrázoláson megfigyelt nemzetségenkénti szignifikáns elkülönülés rendre 36%-a, 47%-a, 26%-a, 49%-a és 39%-a magyarázható a fázissal. A varianciaanalízishez hasonlóan az ordinációs ábrákon is megfigyelhető, hogy a betakarítás időpontja sokkal kisebb mértékben határozza meg a minták elkülönülését, mint a fázis (7. ábra).



7. ábra: A vizsgált nem *Botrytis* nemzetségek NMDS ordinációs ábrája. A színek a nemesrothadási fázist (I, II, III, IV) az alakzatok a mintavételi hónapot (S – szeptember, O – október, N – november) jelölik.

A WGCNA klaszterelemzések tíz génmodul-klasztert azonosítottak (21. ábra). A megkülönböztethetőség miatt ebben az elemzésben a modulok neveit egy 2-es végződésel látjuk el, mint például *blue2*, így a *Botrytis* esetében azonosított génklaszterek megkülönböztethetők a kombinált elemzés esetében azonosított génklaszterektől. A *turquoise2* modulban volt megtalálható a nem *Botrytis* gének több mint 95%-a, a sajátgén ANOVA-elemzése alapján a négy fázis között növekedés volt tapasztalható, de ez a növekedés csak a III. és IV. fázis között volt szignifikáns (8. ábra).



8. ábra: A különböző génextpressziós modulok fáziseloszlása, a szignifikáns különbségeket kis betűkkel jelöljük, a modulok színei az egyes ábrák alatt szerepelnek.

A *turquoise2* modulban 47, 7, 50, 21 és 21 feldúsult útvonalat azonosítottunk, melyek közül több olyan útvonalat azonosítottunk, amelyek olyan enzimeket tartalmaznak, amelyek hozzájárulnak a bor stabilitásához és minőségéhez, illetve amelyek a borból lévő aromás vegyületek képződésének prekursorai, különösen az aminosav-anyagcseréhez (Callejón et al., 2010), a szénhidrát-anyagcseréhez (Han et al., 2020), a lipid-anyagcseréhez, valamint a másodlagos metabolitok képződésében részt vevő enzimekhez kapcsolódóan. A borok érzékszervi és minőségi paramétereikhez hozzájáruló géneket ezekből a feldúsított útvonalakból azonosítottuk, továbbá a WGCNA klaszterezett modulokból hasonló funkciójú hub géneket azonosítottunk, ezeket az értekezés 4. számú mellékletben mutatjuk be részletesen.

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS A JAVASLATOK

Az aszús bogyók bizonyos vizuális és mérhető fizikai-kémiai tulajdonságaiban mutatkozó különbségek, amelyeket a folyamat különböző fázisainak meghatározására használtunk (Hegyi-Kaló, et al., 2020), (Carbajal-Ida, et al., 2016), implicit módon azt sugallták, hogy ezeket a változásokat legalább részben a *B. cinerea* számos, még ismeretlen, funkcionális génje okozza. Tudomásunk szerint kevés olyan tanulmány készült, amely megvilágítja a *B. cinerea* funkcionális génprofiljának minőségi és mennyiségi különbségeit a szabadföldi körülmények között természetesen előforduló aszúbogyó fejlődése során, és azt, hogy ezek a funkcionális gének valószínűleg hogyan járulnak hozzá a botritiszes szőlőbogyók fizikai-kémiai változásaihoz, ami fontos következményekkel jár a borászok számára.

A *B. cinerea* nemesrothadásos génexpressziós profiljának általános hasonlósága a vizsgált hónapokban azt mutatja, hogy a *B. cinerea* nemesrothadásban kifejeződő géneinek összetétele időben viszonylag stabil, ami egyfajta kiszámíthatóságot feltételez. Ez utóbbit az NMDS-elemzések is megerősítették, amelyek az összes hónapot összevonva a II., III. és IV. fázis egyértelmű elkülönülését mutatták, ami megerősíti várakozásainkat. Ez utóbbi döntő jelentőségű a borászok számára. Megállapítjuk tehát, hogy az aszúsodás folyamata során expresszált *Botrytis cinerea* gének a mintavételi idővel nem változnak, és ugyan a II-IV fázisban magasabb totális abundanciát mutatnak az egészséges bogyón is magas gyakorisággal vannak jelen.

A *Vitis vinifera* szőlőbogyó héja főként szénhidrát-alapú vegyületekből, például cellulózból, arabinánból, mannánból, galaktánból, xilánból és xiloglükánból, lignin szerkezetű fehérjékből és proantocianidinekből áll (Apolinar-Valiente, et al., 2017). Az NRCM modulokon belül számos olyan differenciálisan expresszáldó gént azonosítottunk, amelyek szignifikánsan korreláltak a textúra paraméterekkel, ami a bogyóhéj lebontásában szerepet játszó funkcionális útvonalak feldúsulására utal a botritizálódási folyamat során. Azt találtuk, hogy az egészséges bogyókról a II. fázisú bogyókra való átmenet során differenciálisan kifejeződő gének voltak atipikus aszúfejlődésben szerepet játszó, más tanulmányokban is leírt gének (Magyar, 2011) (Hegyi-Kaló, et al., 2020) (Kallitsounakis & Catarino, 2020).

Ennek oka az volt, hogy ebben a szakaszban a bogyóhéj rugalmassági modulusának jelentős változását (E-drop) figyelték meg, ami arra utal, hogy a sejtfa lebomlása elsősorban az aszúsodás e korai szakaszában történik. A szénhidrát-anyagcserében szerepet játszó enzimeknek a bogyóhéj fizikai paramétereinek változásával való megfigyelt korrelációja a jelenlegi vizsgálatban megerősíti, hogy azok aktív szerepet játszanak az aszúsodás során bekövetkező bogyótextúra változásokban.

A szénhidrát-anyagcsere mellett a fehérje-anyagcserét érintő, feldúsult útvonalak is túlsúlyban voltak az adott modulokban. A szőlőbogyó héjának szerkezeti jellegű lebontása mellett a nitrogéntartalmú vegyületek metabolizmusa, mint az aminosavak, peptidek és nukleinsav-származékok fontos szerepet játszanak a *B. cinerea* anyagcsereje szempontjából (Lacroux, et al., 2008). Valószínűleg ez magyarázza az olyan nitrogén-felszabadító enzimek azonosíthatóságát, mint az omega-amidáz (BCIN_14g01750), amely a *brown* modulban az I. és II. fázis között felfelé szabályozott, a feldúsult alanin-aszpartám útvonal (Slocum, 2005) részeként, valamint a green modulban a III. és IV. fázis között felfelé szabályozott, a feldúsult alanin-aszpartám útvonalhoz tartozó glutamát-dehidrogenáz (BCIN_03g07670). A "ketontestek" feldúsult útvonal azonosítása szintén a ketontesteket tartalmazó aminosavak lebontására utal. Az aszúsodás során tehát a korai fázisokban azonosítottunk szignifikánsan feldúsult szénhidrát anyagcserét, különös tekintettel a sejtfa lebontó folyamatokra. A folyamat későbbi szakaszában jelentős nitrogén anyagcsere útvonal feldúsulást kaptunk, amely esetében a könnyen felvehető nitrogén előállításával kapcsolatos géneket találtuk aktívnak.

Számos tanulmány megmutatta, hogy a *B. cinerea* a legnagyobb biomasszát képező gomba az aszúsodás során (Bene & Magyar, 2004) (Blanco-Ulate, et al., 2015), ami arra utal, hogy bizonyos versenyelőnye van más mikroorganizmusokkal szemben a szőlőbogyó mikro környezetében. A kén anyagcsereje és az azt követő méregtelenítés ezért fontos a növény-gomba kölcsönhatási modellben a nemesrothadás folyamat során (Griffith, et al., 2015). A *pink* modulban a kén anyagcsere útvonala az I. és a II. fázis, illetve a III. és a IV. fázis között feldúsult. A *Botrytis cinerea* képes a kénvegyületeket redukálni, ezáltal e vegyületek mennyiségét a túléléséhez megfelelő szintre csökkenti. Továbbá képes ezeket a vegyületeket más másodlagos metabolitokká alakítani, amelyek

előnyösek a szaporodása szempontjából. Amellett, hogy a *B. cinerea* a szaporodását elősegítő metabolitokat termel és alakít át, olyan vegyületeket is azonosítottunk, amelyek antagonistá hatással rendelkeznek más mikroorganizmusokkal szemben. A *brown* modulban a kataláz enzimet (BCIN_03g01920) azonosítottuk, amely az I. és II. fázis között felfelé szabályozott "másodlagos metabolitok" útvonalhoz tartozik. Ez az enzim több gazdagított útvonal, például a glioxilátokkal gazdagított útvonal részét képezi, de az alkaloidok szintézisében is kulcsfontosságú enzim. Ez utóbbi csoportba olyan antagonistá hatású vegyületek tartoznak, mint például a sziderofór ferrirocín (Chowdhury, et al., 2020). A *B. cinerea* által termelt antimikrobiális anyagok megerősítik azt a feltételezésünket miszerint ez a faj olyan adaptív tulajdonságokkal rendelkezik, amelyek lehetővé teszik számára, hogy az aszúsodás során teljes mértékben domináljon.

A következő részben az aszúsodás és a szürkerothadás közötti különbségek vizsgálata során kapott eredményeket értelmezzük. Vizsgálataink szignifikáns különbségeket mutattak ki a kifejeződő gének összetételében szürke- és nemesrothadt bogyók esetében, valamint a különböző szüreti időpontok között is. A *B. cinerea* kifejezett funkcionális génjeinek összetételében jelentős különbségeket találtunk a bogyórothadás típusai között, ami összhangban van a feltételezéseinkkel. A mintavétel időpontja is erős korrelációt mutatott a kifejezett génösszetétellel minden bogyórothadás típusban, ami azt jelzi, hogy a szüret időpontja szignifikáns hatással van a bogyók fiziológiai és biokémiai folyamataira. Összehasonlítva az egészséges bogyóval, a *B. cinerea* felfelé szabályozott génjeinek funkcionális eltérései a nemesrothadás esetében sokkal szignifikánsabbak voltak, mint a szürkerothadás esetében, különösen az anyagcsere tekintetében. A jelenlegi vizsgálatban számos, a sejtaktivitáshoz kapcsolódó GO-terminus azonosítása, mint például a "sejtalkotó biogenezis" és a "sejtosztódás", a *B. cinerea* során bekövetkező proliferációját mutatja. Ez Blanco-Ulate és munkatársai (Blanco-Ulate, et al., 2015) tanulmányában is nyilvánvaló volt, ahol számos, a sejt növekedéshez és a gazdaszöveti szerveződéshez kapcsolódó feldúsult gént azonosítottak. Hasonlóképpen, a Lovato és munkatársai (Lovato, et al., 2019) is jelentősen feldúsult, a sejtburjánzással kapcsolatos GO-terminusokat, nevezetesen a "celluláris bioszintetikus folyamat" és a "transzláció" kifejezéseket azonosították a szüret utáni nemesrothadást mutató bogyókban. Az "antagonista metabolitok bioszintézise" feldúsult

útvonal azonosítása a nemesrothadt bogyók felszabályozott génjeiben arra utal, hogy a *B. cinerea* antagonista aktivitással rendelkezik más mikroorganizmusokkal szemben, ami lehetőséget ad a szaporodásra és a dominanciára. Ez genetikai magyarázatot ad korábbi megfigyeléseinkre, miszerint az aszúsodás során, más fonalas gombák visszaszorulásával a *B. cinerea* dominánssá válik az aszú bogyókban. Ez az antibiotikum útvonal nem dúsul a szürkerothadásban, így az antagonista aktivitást kifejező gének ebben a rothadástípusban nem szignifikánsan aktívak. Valószínűleg ez az oka annak, hogy a növénypatogén gombák a szürkerothadás alatt kezdenek dominálni és diverzifikálódni (Barata, et al., 2012). A munkánk során tehát jellemeztük a szürke és nemesrothadás során expresszált gének funkcióit. Ezek között a szénhidrátanyagcsere a fehérjeanyagcsere és az antimikrobiális anyagok bioszintézise esetében kaptunk számos aktív gént, melyek szerepét részletesen ismertettük.

Tudomásunk szerint a mi tanulmány az első, amely a *B. cinerea* mellett a fonalas gombák és élesztőgombák funkcionális génexpressziós profilját is elemzi szürke- és nemesrothadt bogyókban, és bemutatja, hogy ezek a gombák milyen mértékben járulhatnak hozzá a két rothadás során bekövetkező fizikai-kémiai változásokhoz. Újszerű betekintést nyújtunk továbbá a domináns gombák lehetséges kölcsönhatási dinamikájába és szukcessziójába az aszúsodás során, beleértve bizonyos antagonista mikroba-mikroba és mikroba-növény gének termelődését. A vizsgált gombafajok közül a *B. cinerea* funkcionális génkészletében a legnagyobb számú a különböző rothadástípusokban, mindkét vizsgált mintavételi időpontban differenciálisan expresszált gén, amely bizonyítja a két szőlőbogyó-rothadástípusban való túlsúlyát. Ez nem meglepő, hiszen *B. cinerea* által fertőzött szőlőbogyókat gyűjtöttünk. A nemesrothadásban differenciálisan kifejeződő gének száma (>31) a többi fonalas gomba és élesztő esetében a szürkerothadással szemben (<5) arra utal, hogy ezeknek aktívabb szerepük lehet az aszús bogyó kialakulásában, mint a szürkerothadásban.

Jelentős különbséget találtunk a fonalas gombák és élesztőgombák minőségi és mennyiségi génexpressziós profiljában szürke- és nemesrothadás esetében. Az *A. alternata*, *B. cinerea*, *E. nigrum*, *A. pullulans* és *R. graminis* GO elemzése és útvonal feldúsulás elemzése sokkal aktívabb génexpressziós profilt mutattak az aszúsodás esetében, mint a szürkerothadás esetén, különösen az anyagcsere és a transzporttal és proliferációval kapcsolatos sejtaktivitás tekintetében. Az *A.*

alternata és a *B. cinerea* felfelé szabályozott génprofiljában a sejtproliferációhoz kapcsolódó, feldúsult GO-terminusok azonosítása megfelel Blanco-Ulate és mtsai. megállapításainak (Blanco-Ulate, et al., 2015), akik szintén feldúsult, sejtfolyamatokhoz kapcsolódó útvonalakat találtak, mint például a "sejtnövekedés". Hasonlóképpen, a feldúsult GO-terminusokat, köztük a sejtszintű bioszintetikus folyamat és a 'Celluláris komponens biogenezis' kifejezéseket (Lovato, et al., 2019), illetve (Otto, et al., 2022) azonosították. A sejtburjánzásban részt vevő számos gén azonosítása valószínűleg összefüggésbe hozható a sejtbiomassza növekedésével az aszúsodott bogyók esetében minden itt elemzett gombafajnál.

Az antagonista metabolit bioszintézis feldúsult útvonalainak azonosítása, valamint a virulencia BLAST segítségével meghatározott faktorokhoz kapcsolódó gének azonosítása a vizsgált gombafajok felszabályozott, nemesrothadással összefüggő génjeinek vonatkozásában több esetben is mikrobiális kölcsönhatásokra utal. Az antagonista metabolitok szintéziséhez kapcsolódó enzimeket is azonosítottunk, amelyek az *A. alternata* és az *E. nigrum* esetében a feldúsult "antagonista kölcsönhatás génjeinek bioszintézise" útvonalban olyan vegyületek szintéziséért felelősek, amelyeknek kellemetlen érzékszervi tulajdonságot kölcsönözhet a bornak, beleértve a szulfidot és a ként (Goode et al. 2008).

Más fonalas gombákkal és élesztőkkel ellentétben, amelyek antagonista kölcsönhatás génjeit csak az aszúsodott bogyók esetében fejezték ki, a *B. cinerea* trnaskriptjában antagonista kölcsönhatási faktorokat azonosítottunk mindkét rothadási típus esetében (a feldúsított "Az antagonista kölcsönhatás génjeinek bioszintézise" és virulencia gének). Az a tény, hogy a feldúsult "Antagonista metabolitok bioszintézise" útvonal jelen volt az összes fonalagomba és az *A. pullulans* nemesrothadt bogyókból származó génkészletében, kiemeli, hogy feltehetően ebben a fázisban zajló komplex kölcsönhatási dinamika jellemzi a mikrobiótát. Ez ellentétben áll a szürkerothadásos esettel, ahol a *B. cinerea* elleni antagonizmus hiánya más mikrobák részéről.

Megállapíthatjuk tehát, hogy a nemesrothadt és szürkerothadt bogyókon azonosított mikrobiális kölcsönhatásokkal kapcsolatos géneket. Azt találtuk, hogy míg a *B. cinerea* gének mind a két típus esetében mutat antagonista viselkedést, addig ezek a folyamatok a többi gomba esetében csak az aszúbogyókon volt szignifikánsan feldúsulva.

A jelen tanulmány - tudomásunk szerint - az első, amely a *B. cinerea* mellett azonosított fonalasgombák és élesztőgombák aktív metabolikus szerepét vizsgálja az aszúsodás során, valamint arról, hogy ezek hogyan járulnak hozzá az aszúsodás folyamatához, különösen a szőlő és boraromák, az aromával kapcsolatos vegyületek és azok prekursorainak kialakulásához, amelyek befolyásolhatják az érzékszervi tulajdonságokat és a bor általános minőségét. Mind a fonalasgombák, mind az élesztőgombák transzkript abundancia növekedése az aszúsodás során vizsgálataink eredménye alapján ellentétben áll az irodalomból ismertekkel, nevezetesen, hogy a fonalas gombák a folyamat elején jelennek meg, szemben az élesztőgombákkal, amelyek a későbbi szakaszokban dominálnak (Li, et al., 2021). Ez az ellentétes trend valószínűleg az aszúsodás négy szakasza során növekvő funkcionális szerepét tükrözi, különösen a jelenlegi vizsgálatban az aromával kapcsolatos prekursorok esetében. A WGCNA klaszterezett *turquoise* modulhoz tartozó sajátgén jelentős növekedése a II-III. fázisától a IV. fázisáig, valamint a legnagyobb számú egyedileg felszabályozott gén előfordulása az összes fonalas és élesztőgomba esetében a negyedik fázisban kvantitatív módon azt jelzi, hogy ebben a fázisban a mikrobióta más, a bor ízét és aromáját érintő együttes mikrobiális hatás az aszúsodás későbbi fázisaiban történik. Az aroma kialakulásához kapcsolódó számos feldúsult útvonal és gén, pl. az aminosav- és lipidanyagcserében részt vevő útvonalak előfordulása jelezte az aroma kialakulásában betöltött közvetlen és közvetett szerepüket. A *B. cinerea*-tól eltérő, aszúsodáshoz kapcsolódó fonalasgombákból és élesztőgombákból származó számos enzim azonosítása a *B. cinerea* fontos ám nem egyedüli szerepére utal az utóbbi vonatkozásban (lásd. az értekezés M4 mellékletében).

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. tézis

A nemesrothadás és szürkerothadás során a *B. cinerea* a bogyófertőzés első lépéseként a szőlőbogyó héjának lebontásáért felelős géneket fejezi ki, majd a kórokozó dominanciáját és a bogyó felületének és belső szöveteinek kolonizációját elősegítő géneket expresszálja. Ezek a gének nemesrothadás esetében aktívabbnak, szignifikánsan nagyobb abundanciájúnak határoztam meg, mint szürkerothadás esetében.

2. tézis

A *Botrytis cinerea* expresszált funkcionális génjei, nemesrothadás során szignifikánsan feldúsult útvonalakat mutattak olyan, az aszúsodás szempontjából előnyös biokémiai változások esetében, mint a cukor- és fehérjetartalom növekedése, valamint az ún. botritiszes boraromát meghatározó prekursor molekulák bioszintézise, míg szürkerothadás esetében, és a növényi védekezési válaszok kijátszására és fitotoxikus vegyületek előállítására szolgáló géneket fejez ki.

3. tézis

A *Botrytis cinerea* által expresszált gének az aszúsodás kezdeti szakaszában a szénhidrát lebontáshoz kapcsolódó útvonalak lebontó lépései szignifikánsan feldúsulnak, amelyek a bogyóhéj szerkezetének változásához járulnak hozzá, míg az aszúsodás későbbi szakaszában feldúsult anyagcsere útvonalak lehetővé teszik, hogy a *Botrytis cinerea* kolonizálja a szőlőbogyót („szulfát anyagcsere”, lebontás) és domináljon annak mikrobiótájában („antimikrobiális anyagok bioszintézise”).

4. tézis

Munkám során az aszúbogyón a *B. cinerea* mellett legnagyobb gyakorisággal előforduló gombák metabolikus aktivitását vizsgáltam, úgy, mint az *A. alternata*, *E. nigrum* fonalagombák, valamint az *A. pullulans* és *R. graminis* élesztők. Megmutattam, hogy a nemesrothadás során ezeknek a mikrobáknak jelentős szerepük van az aszúsodás folyamatában mivel nagyszámú gént

felszabályozottan expresszálnak (899 gén), míg szürkerothadás során jóval kevesebbet (15 gén).

5. tézis

Tanulmányom során leírtam az *A. alternata*, *A. pulullans*, *E. nigrum* és *R. graminis* által expresszált legfontosabb aminovas-, lipid- és szénhidrátanyagcseréhez tartozó feldúsult útvonalakat, melyek olyan prekuzormolekulák szintézisét aktiválják, amelyek hozzájárulnak az aszúborok érzékszervi tulajdonságaihoz, valamint azok élelmiszeripari minőségéhez és biokémiai stabilitásához.

IRODALOMJEGYZÉK

ABUQAMAR, S., MOUSTAFA, K., & TRAN, L. (2016). 'Omics' and plant responses to *Botrytis cinerea*. In: *Frontiers in plant science*, 7, 1658.

ADBELKRI, Y., BANROQUES, J., & KYLE TANNER, N. (2020). Known inhibitors of RNA helicases and their therapeutic potential. In: *RNA Remodelling Proteins: Methods and protocols*, 35-52.

APOLINAR-VALIENTE, R., GÓMEZ-PLAZA, E., TERRIER, N., DOCO, T., & ROS-GARCÍA, J. (2017). The composition of cell walls from grape skin in *Vitis vinifera* intraspecific hybrids. In: *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(12), 4029-4035.

BARATA, A., MALFEITO-FERREIRA, M., & LOUREIRO, V. (2012). The microbial ecology of wine grape berries. In: *International journal of food microbiology*, 153(3), 243-259.

BENE, ZS., & MAGYAR, I. (2004). Characterization of yeast and mould biota of botrytized grapes in Tokaj wine region in the years 2000 and 2001. In: *Acta Alimentaria*, 33(3), 259-267.

BLANCO-ULATE, B., AMRINE, K., COLINS, T., RIVERO, R., VINCENTE, A., MORALES-CRUZ, A., . . . CANTU, D. (2015). Developmental and Metabolic Plasticity of White-Skinned Grape Berries in Response to *Botrytis cinerea* during Noble Rot. In: *Plant Physiology*, 169(4), 2422-2443.

CALLEJÓN, R. M., TRONCOSO, A. M., & MORALES, M. L. (2010). Determination of amino acids in grape-derived products: a review. In: *Talanta*, 81(4-5), 1143-1152.

CARBAJAL-IDA, D., MAURY, C., SALAS, E., SIRET, R., & MEHINAGIC, E. (2016). Physico-chemical properties of botrytised Chenin blanc grapes to assess the extent of noble rot. In: *European Food Research and Technology*, 242, 117-126.

CHOWDHURY, F., ZAMAN, N., ISLAM, M., & KHAN, H. (2020). Anti-fungal secondary metabolites and hydrolytic enzymes from rhizospheric bacteria in crop protection: a review. In: *Journal of the Bangladesh Academy of Sciences*, 44(2).

COLLADO, I., SANCHEZ, A., & HANSON, J. (2007). Fungal terpene metabolites: biosynthetic relationships and the control of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. In: *Natural product reports*, 24(4), 674-686.

COLMENARES, A., ALEU, J., DURA-PATRON, R., COLLADO, I., & HERNANDEZ-GALAN, R. (2002). The putative role of botrydial and related metabolites in the infection mechanism of *Botrytis cinerea*. In: *Journal of chemical ecology*, 28, 997-1005.

CRANDALL, S. G., GOLD, K. M., JIMÉNEZ-GASCO, M. D. M., FILGUEIRAS, C. C., & WILLETT, D. S. (2020). A multi-omics approach to solving problems in plant disease ecology. In: *PLoS One*, 15(9), e0237975.

CUZICK, A., SEAGER, J., WOOD, V., URBAN, M., RUTHERFORD, K., & HAMMOND-KOSACK, K. E. (2023). A framework for community curation of interspecies interactions literature. In: *Elife*, 12, e84658.

DEIGHTON, N., MUCKNSCHNABEL, I., COLMENARES, A., COLLADO, I., & WILLIAMSON, B. (2001). Botrydial is produced in plant tissues infected by *Botrytis cinerea*. In: *Phytochemistry*, 57(5), 689-692.

ELAD, Y., WILLIAMSON, B., TUDZYNSKI, P., & DELEN, N. (2004). *Botrytis: biology, pathology and control*. Heidelberg, Németország: Springer Science and Business Media.

ENGLEZOS, V., GIASCOSA, S., RANTSIOU, K., ROLLE, L., & COCOLIN, L. (2017). *Starmerella bacillaris* in winemaking: Opportunities and risks. In: *Current opinion in food science*, 17, 30-35.

FOURNIER, E., GLADIEUX, P., & GIRAUD, T. (2013). The ‘D r J ekyll and M r H yde fungus’: noble rot versus gray mold symptoms of *Botrytis cinerea* on grapes. In: *Evolutionary applications*, 6(6), 960-969.

FRANCIOLI, D., LENTENDU, G., LEWIN, S., & KOLB, S. (2021). DNA metabarcoding for the characterization of terrestrial microbiota—pitfalls and solutions. In: *Microorganisms*, 9(2), 361.

FRANCIOLI, D., SCHULZ, E., BUSCOT, F., & REITZ, T. (2018). Dynamics of soil bacterial communities over a vegetation season relate to both soil nutrient status and plant growth phenology. In: *Microbial Ecology*, 75, 216-227.

GOODE, J., & HARROP, S. (2008). Wine faults and their prevalence: Data from the world's largest blind tasting. In: *Proceedings of the 20th Entretiens Scientifiques Lallemand*, Horsens, Denmark, 15.

GRIFFITH, C., WOODROW, J., & SIEBER, J. (2015). Environmental behavior and analysis of agricultural sulfur. In: *Pest management science*, 71(11), 1486-1496.

HAN, X., PENG, Q., YANG, H., HU, B., SHEN, C., & TIAN, R. (2020). Influence of different carbohydrate sources on physicochemical properties and metabolites of fermented greengage (*Prunus mume*) wines. In: *Lwt*, 121, 108929.

HAYASHI, K., SCHOONBEEK, H.-J., & MAARTEN, A. (2002). Bcmfs1, a novel major facilitator superfamily transporter from *Botrytis cinerea*, provides tolerance towards the natural toxic compounds camptothecin and cercosporin and towards fungicides. In: *Applied and environmental microbiology*, 68(10), 4996-5004.

HEGYI-KALÓ, J., HEGYI, Á., GEML, J., ZSÓFI, Z., PÁLFI, X., & VÁCZY, K. (2020). Physico-Chemical Characteristics and Culturable Microbial Communities of Grape Berries Change Strongly during Noble Rot Development. In: *Plants*, 9(12), 1809.

KALLITSOUNAKIS, G., & CATARINO, S. (2020). An overview on botrytized wines. In: *Ciência e técnica vitivinícola*.

LACROUX, F., TRÉGOAT, O., VAN LEEUWEN, C., PONS, A., TOMINAGA, T., LAVIGNE-CRUEGE, V., & DUBOURDIEU, D. (2008). Effect of foliar nitrogen and sulphur application on aromatic expression of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. In: *OenoOne*, 42(3), 125-132.

LANGFELDER, K., STRIEBEL, M., JAHN, B., HAASE, G., & BRAKHAGE, A. (2003). Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi. In: *Fungal genetics and biology*, 38(2), 143-158.

LANGFELDER, P., & HORVATH, S. (2008). WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. In: *BMC bioinformatics*, 9(1), 1-13.

LI, H., JAMES, A., SHEN, X., & WANG, Y. (2021). Roles of microbiota in the formation of botrytized grapes and wines. In: *CYTA Journal of Food*, 19, 656-667.

LOVATO, A., ZENONI, S., TORNIELLI, G., COLOMBO, T., VANDELLE, E., & POLVERARI, A. (2019). Specific molecular interactions between *Vitis vinifera* and *Botrytis cinerea* are required for noble rot development in grape berries. In: *Postharvest biology and technology*, 156, 110924.

LOVE, M., SIMON, A., & WOLFGANG, H. (2014). Differential analysis of count data—the DESeq2 package. In: *Genome Biol*, 15(550), 10-1186.

MAGYAR, I. (2011). Botrytized wines. In: *Advances in food and nutrition research*, 63, 147-206.

MICHELI, F. (2001). Pectin methylesterases: cell wall enzymes with important roles in plant physiology. In: *Trends in plant science*, 6.9, 414-419.

OTTO, M., GEML, J., HEGYI, Á., HEGYI-KALÓ, J., POGÁNY, M., PIERNEEF, R., & VÁCZY, K. (2022). *Botrytis cinerea* expression profile and metabolism differs between noble and grey rot of grapes. In: *Food Microbiology*, 106(104037).

PATRO, R., DUGGAL, G., LOVE, M., IRIZZARY, R., & KINGSFORD, C. (2017). Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression. In: *Nature methods*, 14(4), 417-419.

PINEDO, C., MORAGA, J., COLLADO, I., & ALEU, J. (2020). *Botrytis* species as biocatalysts. In: *Phytochemistry Reviews*, 19, 529-558.

ROLKE, Y., LIU, S., QUIDDE, T., WILLIAMSON, B., SCHOUTEN, A., WELTRING, K., & TUDZYNSKI, P. (2004). Functional analysis of H₂O₂-generating systems in *Botrytis cinerea*: the major Cu-Zn-superoxide dismutase (BCSOD1) contributes to virulence on French bean, whereas a glucose

oxidase (BCGOD1) is dispensable. In: *Molecular Plant Pathology*, 5(1), 17-27.

SCHUMACHER, J. (2012). Tools for *Botrytis cinerea*: new expression vectors make the gray mold fungus more accessible to cell biology approaches. In: *Fungal genetics and biology*, 49.6, 483-497.

TANI, H., KOSHINO, H., SAKUNO, E., & NAKAJIMA, H. (2005). Metabolites Produced by *Botrytis cinerea*, and Their Antifungal Activity against *Magnaporthe oryzae*, a Pathogen of Rice Blast Disease. In: *Journal of natural products*, 68(12), 1768-1772.

UNIPROT, C. (2015). UniProt: a hub for protein information. In: *Nucleic acid research*, 43, 204-212.

VAN KAN, J. (2006). Licensed to kill: the lifestyle of a necrotrophic plant pathogen. In: *Trends in plant science*, 11(5), 247-253.

VAN KAN, J., STASSEN, J., MOSBACH, A., VAN DER LEE, T., FAINO, L., FARMER, A., & SCAILLET, G. (2017). A gapless genome sequence of the fungus *Botrytis cinerea*. In: *Molecular plant pathology*, 18(1), 75-89.

VIANNINI, A., & CHILOSI, G. (2013). *Botrytis Infection: Grey Mould and Noble Rot*. In *Sweet, Reinforced and Fortified Wines: Grape Biochemistry, Technology and Vinification* (old.: 159-169). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Ltd.

YU, Q.-K., HAN, L., WU, Y., & LIU, T. (2020). The Role of Oxidoreductase-Like Protein Olp1 in Sexual Reproduction and Virulence of *Cryptococcus neoformans*. In: *Microorganisms*, 8(11), 1730.

A SZERZŐNEK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ
KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓI

Folyóiratcikkek:

HEGYI, Á. I., OTTO, M., GEML, J., HEGYI-KALÓ, J., KUN, J., GYENESEI, A., ... & VÁCZY, K. Z. (2022). Metatranscriptomic Analyses Reveal the Functional Role of *Botrytis cinerea* in Biochemical and Textural Changes during Noble Rot of Grapevines. In: *Journal of Fungi*, 8(4), 378.

OTTO, M., GEML, J., **HEGYI, Á. I.**, HEGYI-KALÓ, J., PIERNEEF, R., POGÁNY, M., ... & VÁCZY, K. Z. (2022). *Botrytis cinerea* expression profile and metabolism differs between noble and grey rot of grapes. In: *Food Microbiology*, 106, 104037.

BUBOLA, M., ROSSI, S., VÁCZY, K. Z., **HEGYI, Á. I.**, PERSIC, M., ZDUNIĆ, G., ... & RADEKA, S. (2023). Modification of Cv. Merlot Berry Composition and Wine Sensory Characteristics by Different Leaf Area to Fruit Ratios. In: *Applied Sciences*, 13(9), 5465.

HEGYI, Á. I., OTTO, M., GEML, J., HEGYI-KALÓ, J., GEIGER, A., GOLEN, R., ... & VÁCZY, K. Z. (2023). The origin of the particular aroma of noble rot wines: various fungi contribute to the development of the aroma profile of botrytised grape berries. In: *OENO One*, 57(3), 165-176.

OTTO, M., GEML, J., **HEGYI, Á. I.**, HEGYI-KALÓ, J., KUN, J., GYENESEI, A., & VÁCZY, K. Z. (2023). Metatranscriptomic analyses of grapes reveal differences in expressed functional genes of filamentous and yeast fungi during noble rot and grey rot. In: *Fungal Ecology*, 65, 101277.

Konferenciaközlemények:

GEML, J; MULLER, M; **HEGYI, ÁI**; HEGYI-KALÓ, J; VÁCZY, KZ Similar communities, but different functions: novel insights into the composition and gene expression profiles of fungi in *Botrytis*-infected grapes during noble rot and grey rot In: *Julia, Kerrigan Annual Meeting of the Mycological Society of America 2023* (2023)

HEGYI, ÁDÁM ISTVÁN; MARGOT, OTTO; HEGYI-KALÓ, JÚLIA; GEML, JÓZSEF; GEIGER, ADRIENN; SZABADI, KRISZTA LILLA; GORE, RICHÁRD; GOMBA-TÓTH, ADRIENN; THOMAS, CELS; VÁCZY, KÁLMÁN ZOLTÁN a transcriptomic analyses of the role of other fungi in botrytis cinerea caused noble rot of grapevine In: *Verdier, V 12th International Congress of Plant Pathology* (2023)

HEGYI, ÁDÁM ISTVÁN; MARGOT, OTTO; JÚLIA, HEGYI-KALÓ; GEML, JÓZSEF; GEIGER, ADRIENN; SZABADI, KRISZTA LILLA; GOLEN, RICHÁRD; GOMBA-TÓTH, ADRIENN; THOMAS, CELS; VÁCZY, KÁLMÁN ZOLTÁN Metatranscriptomic analysis of possible changes in oenologically relevant components of grape berries during noble rot In: *Verdier, V 12th International Congress of Plant Pathology* (2023)

HEGYI, ÁI; OTTO, M; HEGYI-KALÓ, J; CELS, T; GOMBA-TÓTH, A; GOLEN, R; GEML, J; VÁCZY, KZ Metatranscriptomic analysis of "aszú" berries: the potential role of the most important species of the grape microbiota in the aroma of wines with noble rot
In: *Ramon, Gonzalez Book of Abstracts 2nd International Congress on Grapevine and Wine Sciences* (2023)

HEGYI-KALÓ, JÚLIA; MARGOT, OTTO; **HEGYI, ÁDÁM ISTVÁN**; GEML, JÓZSEF; GEIGER, ADRIENN; GOLEN, RICHÁRD; THOMAS, CELS; GOMBA-TÓTH, ADRIENN; VÁCZY, KÁLMÁN ZOLTÁN Discovering the process of noble rot: fungal ecology of grape berries during the noble rot transformation in different vineyards of the Tokaj wine region: poster 69 In: *Ramon, Gonzalez Book of Abstracts 2nd International Congress on Grapevine and Wine Sciences* (2023)

LOVAS, MIKLÓS; KORÓZS, MARIETTA; MOLNÁR, ANNA; **HEGYI, ÁDÁM ISTVÁN**; SZABADI, KRISZTA; CELS, THOMAS; VÁCZY, KÁLMÁN ZOLTÁN Metabolomic profiling of botrytized grape berries: Unravelling the dynamic chemical transformations during noble rot: poster 79 In: *Ramon, Gonzalez Book of Abstracts 2nd International Congress on Grapevine and Wine Sciences* (2023)

MULLER, M; GEML, J; **HEGYI, ÁI**; HEGYI-KALÓ, J; KUN, J; GYENESEI, A; VÁCZY, KZ Metatranscriptomic analyses of grapes reveal differences in expressed functional genes of filamentous and yeast fungi during noble rot and grey rot In: *Verdier, V 12th International Congress of Plant Pathology (2023)*

MULLER, M; GEML, J; **HEGYI, ÁI**; HEGYI-KALÓ, J; KUN, J; GYENESEI, A; VÁCZY, KZ Metatranscriptomic analyses reveal fungal functional genes with possible roles in the interactions among dominant fungal genera during noble rot development of grapes
In: *Verdier, V 12th International Congress of Plant Pathology (2023)*

GEML, J; **HEGYI, ÁI**; HEGYI-KALÓ, J; MULLER, M; VÁCZY, KZ Gombaközösségek összehasonlítása Botrytis-fertőzött nemesrothat és szürkerothadt szőlőbogyókban In: *Márialigeti, Károly; Dobay, Orsolya (szerk.) Magyar Mikrobiológiai Társaság 2022. évi Nagygyűlése (2022)*

GEML, J; **HEGYI, ÁI**; HEGYI-KALÓ, J; OTTO, M; VÁCZY, KZ DNA metabarcoding of fungal community associated with Botrytis-infected grape berries reveals differences in pathobiome composition between noble rot and grey rot In: *Botrytis-Sclerotinia Symposium 2022 (2022)*

HEGYI, ÁI; OTTO, M; GEML, J; HEGYI-KALÓ, J; KUN, J; GYENESEI, A; PIERNEEF, R; VÁCZY, KZ Metatranscriptomic analysis of the noble rot process: from textural changes to antimicrobials In: *Botrytis-Sclerotinia Symposium 2022 (2022)*

HEGYI-KALÓ, J; **HEGYI, ÁI**; GEML, J; OTTO, M; ZSÓFI, ZS; PÁLFI, X; VÁCZY, KZ. Grape berry texturable changes during the noble rot process In: *Botrytis-Sclerotinia Symposium 2022 (2022)*

MULLER, M; GEML, J; **HEGYI, ÁI**; HEGYI-KALÓ, J; KUN, J; GYENESEI, A; VÁCZY, KZ Különbségek a gombák expresszált funkcionális génjeiben a szőlő nemes rothadása és szürkerothadása során In: *Márialigeti, Károly; Dobay, Orsolya (szerk.) Magyar Mikrobiológiai Társaság 2022. évi Nagygyűlése (2022)*

OTTO, M; GEML, J; **HEGYI, ÁI**; HEGYI-KALÓ, J; KUN, J; GYENESEI, A; VÁCZY, KZ Metatranscriptomic analyses reveals the role of fungal species other than Botrytis cinerea in the noble rotting process In: *Botrytis-Sclerotinia Symposium 2022* (2022)

OTTO, Margot; GEML, J.; **HEGYI, Á.**; HEGYI-KALÓ, J.; PIERNEEF, Rian; KUN, J.; POGÁNY, M.; VÁCZY, K. Z. A Botrytis cinerea génexpressziós profiljainak összehasonlítása a szőlő nemes és szürke rothadásának fejlődése során metatranszkriptomikai módszerekkel
In: *Haltrich, Attila; Varga, Ákos (szerk.) 68. Növényvédelmi Tudományos Napok Magyar Növényvédelmi Társaság* (2022)

GEML, J; OTTO, M; **HEGYI, ÁI**; HEGYI-KALÓ, J; PIERNEEF, R; POGÁNY, M; VÁCZY, KZ Using differential gene expression profiles to understand the role of Botrytis cinerea in noble and grey rot development in Vitis vinifera cv. Furmint In: *BotrySclero2021* (2021)

HEGYI-KALÓ, J; **HEGYI, ÁI**; GEML, J; ZSÓFI, ZS; PÁLFI, X; VÁCZY, KZ Diversity and compositional dynamics of culturable microbial communities and physico-chemical characteristics of grape berries during noble rot development In: *BotrySclero2021*(2021)

HEGYI-KALÓ, J; **HEGYI, ÁI**; GEML, J; ZSÓFI, ZS; VÁCZY, KZ Az aszúsodási folyamat összefüggéseinek vizsgálata. In: *Haltrich, Attila; Varga, Ákos (szerk.) 67. Növényvédelmi Tudományos Napok konferenciakiadványa : Növényvédelmi Tudományos Napok 2021* (2021)

OTTO, M; GEML, J; **HEGYI, AI**; HEGYI-KALÓ, J; PIERNEEF, R; KUN, J; GYENESEI, A; VÁCZY, KZ Botrytis cinerea expression profile and metabolism differs between noble and grey rot of grapes In: *8th Theodor Escherich and Amici symposium 2021* (2021)