



KÖRNYEZETTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

SUGÁRGOMBA TÖRZSGYŰJTEMÉNY TAXONÓMIAI ÉS KÖRNYEZETBIOLÓGIAI
ELEMZÉSE

Harkai Péter

GÖDÖLLŐ

2017

A doktori iskola

Megnevezése: Környezettudományi Doktori Iskola

Tudományága: Környezettudomány

Vezetője: Csákiné Dr. Michéli Erika, D.Sc.

egyetemi tanár

Szent István Egyetem

Mezőgazdaság és Környezettudományi Kar

Környezettudományi Intézet

Témavezető: Dr. Kriszt Balázs, Ph.D.

intézetigazgató, egyetemi docens

Szent István Egyetem

Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar

Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet

Környezetbiztonsági és Környezettoxikológiai Tanszék

Témavezető: Dr. Szabó István, Ph.D.

tanszékvezető helyettes, egyetemi docens

Szent István Egyetem

Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar

Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet

Környezetbiztonsági és Környezettoxikológiai Tanszék

.....

Az iskolavezető jóváhagyása A témavezető jóváhagyása A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

LEGGYAKRABBAN ELŐFORDULÓ JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	6
1. BEVEZETÉS	7
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	11
2.1. A sugárgombák és a <i>Streptomycetaceae</i> család.....	11
2.1.1. Történet és rendszertan.....	11
2.1.2. Sejttan és morfológia.....	12
2.1.3. A sugárgombák ökológiája.....	14
2.2. A <i>Streptomyces</i> fajok antimikrobiális hatásai.....	16
2.2.1. Az antibiotikumokról általánosan.....	16
2.2.2. Az antibiotikumok felhasználása.....	18
2.2.3. A <i>Streptomyces</i> nemzetség antimikrobiális hatást kiváltó képessége	19
2.3. A biodegradáció mint lehetséges bioremediációs módszer	20
2.3.1. A <i>Streptomyces</i> nemzetség biodegradációs képessége.....	20
2.4. Mikotoxinok bemutatása.....	22
2.4.1. Zearalenon	23
2.4.2. Aflatoxin-B1	25
2.4.3. A mikotoxinok hatástalanításának módszerei	26
3. ANYAG ÉS MÓDSZEREK	29
3.1. A törzsgyűjtemény eredete	29
3.2. Revitalizálás.....	30
3.3. Makroszkopikus (fenotípusos) vizsgálat és hőmérsékleti optimum meghatározás	31
3.4. Mikroba törzsek molekuláris biológiai azonosítása.....	32
3.4.1. A törzsek faji szintű azonosítása 16S rDNS alapján	32
3.4.2. DNS izolálás.....	32
3.4.3. DNS detektálása agarózgél-elektroforézissel, koncentráció meghatározás.....	33
3.4.4. Polimeráz láncreakció	34
3.4.4.1. Agaróz gélelektroforézis az amplifikált PCR termék kimutatásához	35
3.4.4.2. PCR termék tisztítása.....	35
3.4.4.3. Szekvenáló reakció és a fragmentek báziselemzése	36
3.4.4.4. A szekvenáló termék tisztítása etanol-precipitációval	37
3.4.4.5. A szekvenciák kiértékelése a nukleotid sorrend alapján.....	37

3.5.	A faj szinten azonosított törzsek toxinbontó képességének tesztelése.....	37
3.5.1.	A törzsek előkészítése	37
3.5.2.	Bitoxinkísérlet, előkísérlet.....	38
3.5.2.1.	A toxinok biológiai hatásának tesztelése biotesztekkel	38
3.5.3.	Monotoxin kísérlet.....	47
3.5.3.1.	A toxin koncentráció mérése ELISA-teszttel.....	47
3.5.3.2.	A mikotoxinok sejtfalon történő adszorpciójának kimutatása immunbiológiai módszerrel.....	48
3.6.	Antimikrobiális gátlás hatás vizsgálata.....	48
3.6.1.	A gátlási kísérletekben alkalmazott teszt mikroorganizmusok.....	49
3.6.2.	Tesztorganizmusok előkészítése.....	51
3.6.3.	Keresztcsíkozásos teszt.....	52
3.6.4.	Az antimikrobiális hatás tesztelése agardiffúziós lyukteszt módszerrel.....	53
3.7.	A <i>Streptomyces</i> törzsek detoxifikációs és antimikrobiális hatásának összevetése.....	55
3.8.	Törzsfenntartási módszerek és a <i>Streptomyces</i> törzsgyűjtemény kialakítása	55
3.8.1.	Liofilizálás	56
3.8.2.	Mélyhűtéses fagyasztás	57
4.	EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....	59
4.1.	Revitalizálás és molekuláris biológiai identifikálás.....	59
4.2.	Számítógépes adatbázis felállítása a törzsgyűjteményről	59
4.3.	Hőmérsékleti optimum meghatározás és makroszkopikus vizsgálat	59
4.4.	Mikotoxin bontási kísérlet	60
4.4.1.	Bitoxin bontási kísérlet.....	60
4.4.2.	Monotoxin bontási kísérlet	61
4.4.2.1.	Az AFB1 koncentrációjának elemzése ELISA és SOS-Chromoteszttel a bontási kísérletet követően	62
4.4.2.2.	A ZEA koncentrációjának elemzése ELISA és BLYES-teszttel a bontási kísérletet követően	63
4.4.2.3.	Pelletvizsgálat	65
4.4.3.	A két detoxifikációs módszer eredményeinek összevetése	67
4.5.	Antimikrobiális hatás vizsgálatainak eredményei.....	68
4.5.1.	Keresztcsíkozásos teszt.....	68
4.5.2.	Agardiffúziós lyukteszt.....	70
4.5.3.	A két antibiotikus hatást mérő módszer összevetése	73

4.6.	Antimikrobiális hatás és a biodetoxifikációs vizsgálatok eredményeinek összevetése	75
5.	KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK	79
6.	ÖSSZEFOGLALÁS.....	83
7.	ENGLISH SUMMARY	85
	MELLÉKLET 1. IRODALOMJEGYZÉK	87
	MELLÉKLET 2.	104
	MELLÉKLET 2.	104
	MELLÉKLET 3.	106
	MELLÉKLET 4.	113
	MELLÉKLET 5.	114
	MELLÉKLET 6.	117
	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	121

LEGGYAKRABBAN ELŐFORDULÓ JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

2AA	2-amino-antracén
4NQO	4-nitro-quinoline-oxid
AFB1	aflatoxin-B1
AFB2	aflatoxin-B2
AFG1	aflatoxin-G1
AFG2	aflatoxin-G2
AFM1	aflatoxin-M1
BI	biolumineszcencia intenzifikáció (%-ban kifejezve)
BG	biolumineszcencia gátlás (%-ban kifejezve)
BLYES	Bioluminescent Yeast Estrogen System
BP	bázispár
DMSO	dimetil-szulfoxid
dNTP	dezoxi-nukleotid-trifoszfát
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (Német Nemzeti Mikroorganizmusok és Sejtkultúrák Gyűjteménye)
EDC	Endocrine Disrupting Chemicals (Endokrin rendszert zavaró vegyi anyagok)
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
ELISA	Enzyme linked Immuno Sorbent Assay (enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálat)
GYM	Glucose, Yeast-extract, Malt-extract (glükóz, élesztő- és malátakivonat)
IF	indukciós faktor
IgG	Immunoglobulin G
LB	Luria-Bertani táptalaj
MB	megabázis
OD	Optical Density (optikai sűrűség)
PCR	Polimerase Chain Reaction (polimeráz láncreakció)
PDA	Potato Dextrose Agar (burgonya- dextróz agar)
PHA	poli-3-hidroxialkanoát
PHB	poli-3-hidroxibutirát
PHVB	poli-3-hidroxibutirát-ko-hidroxivalerát
SOSIP	SOS-indukciós potenciál
T-2	T-2 toxin
TBE	Tris-Borate-EDTA
YMM	Yeast Minimal Medium (nincs magyar megfelelője)
ZEA	zearalenon

1. BEVEZETÉS

Napjaink egyik jelentős kihívása az antropogén eredetű kémiai és biológiai szennyezések csökkentése a környezetben. Toxikus anyagok kerülhetnek a környezetbe az ipar, a mezőgazdaság, a közlekedés és a kommunális hulladék útján. A szennyező anyagok nemcsak önmagukban okozhatnak problémát, hanem együttes megjelenésük következményeként több toxikus anyag egymásra hatása további veszélyt jelenthet az élőlényekre és azok élőhelyeire. Az ehhez hasonló környezeti problémák orvoslására számos kármentesítési módszer létezik, többek között fizikai-kémiai, termikus, izolációs és biológiai eljárások. A biológiai módszerrel végzett kármentesítést bioremediációnak nevezzük, melynek során a talajokba, vizekbe és üledékbe került, közegészségügyi szempontból veszélyt jelentő szennyezőanyagokat biológiai úton történő átalakítással, bontással (biodegradáció) távolítják el (CRAWFORD, 1996). A remediációs technológia kiválasztásánál nemcsak a környezetpolitikai és gazdasági megfontolások játszanak fontos szerepet, hanem a remediáció során, illetve eredményeképpen elérhető környezeti-, ökológiai- és humán egészségkockázat csökkenése is. A bioremediáció egyik típusa a bioaugmentáció, melynek során olyan baktérium törzseket juttatnak a környezetbe, melyek szennyező vagy toxikus anyagokat képesek lebontani, és ezáltal a szennyezést vagy mérgező hatást korlátozott mértékben, illetve ideális esetben teljesen megszüntetni (GUIMARÃES et al., 2010). A módszer komoly előnye más módszerekkel szemben, hogy amennyiben a bontás teljes mértékben végbemegy, a környezetre veszélytelen bomlástermékek jönnek létre (SZABÓ, 2011).

A baktériumok és mikroszkópikus gombák jelentős metabolikus repertoárjuknak, valamint szélsőséges környezettűrésüknek és nagyfokú szaporodásuknak köszönhetően a leggyakoribb szereplői a bioremediációs eljárásoknak. A toxikus anyagok biodegradációjának esetében fontos vizsgálni, hogy a mérgező anyag koncentrációcsökkenése valóban a biológiai bontásnak köszönhető, ugyanis az akár megkötődhet a mikrobák sejtfalán is, illetőleg azt is érdemes számításba venni, hogy a bontás során másodlagos, és a kiindulási vegyületnél akár még toxikusabb metabolitok is keletkezhetnek (VERHEECKE et al., 2016).

További vizsgálatot igényel, hogy egyes baktériumtörzsek ugyan képesek valamilyen környezetre ártalmas szennyező vagy toxikus anyag bontására, de nem feltétlenül alkalmazhatóak biodegradációs feladat ellátására, mert például fakultatív ill. obligát patogén szervezetek, illetve antimikrobiális anyagot is termelhetnek. Ha egy biodegradációs céllal a környezetbe kijuttatott baktérium antimikrobiális hatást fejt ki, ezzel megbolygathatja az adott környezet természetes mikrobiótáját (DING és HE, 2010), ami további környezetegészségügyi

problémákat vet fel (például rezisztencia kialakulása és terjedése), és így akár komolyabb kockázattal is járhat, mint a biológiai bontással létrejött haszon.

Disszertációmban gombák által termelt toxinok, ún. mikotoxinok biológiai lebonthatóságát vizsgáltam. A mikotoxinok olyan másodlagos anyagcseretermékek, amelyeket egyes penészgomba fajok termelnek. Korunk növénytermesztésének egyik legjelentősebb kihívása, hogy takarmány- és élelmiszer alapanyagainkban egyre nagyobb mértékben jelennek meg azon penészgomba fajok, amelyek mikotoxintermelő képességükkel veszélyt jelentenek az emberre (HUSSEIN és BRASEL, 2001). A klímaváltozás következtében olyan penészgombafajok jutottak el hazánkba, melyek eddig csak trópusi vagy szubtrópusi területeken fordultak elő, és ezáltal olyan mikotoxinok is eljutottak mezőgazdasági területeinkre, melyek eddig ismeretlenek voltak idehaza (DOBOLYI et al., 2011). A mikotoxinok veszélyességét fokozza, hogy a szennyezett terményekben/termékekben felhalmozódva közvetlen vagy közvetett módon képesek súlyos egészségkárosító hatásukat kifejteni a teljes élelmiszer-lánc rendszerben. Mindezek alapján leszögezhető, hogy egyre nagyobb figyelmet kell fordítani az élelmiszer alapanyagok, a takarmányok és egyéb mezőgazdasági termékek mikotoxin-mentesítésére. A szakirodalmi adatok alapján mára számos baktériumtörzsről bebizonyosodott, hogy alkalmas mikotoxinok bontására, vagyis a bioaugmentáció ebben az esetben is egy lehetséges mentesítési módszer lehet (VERHEECKE et al., 2016).

Nemzetközi előfordulásuk alapján két igen jelentős mikotoxin, az *Aspergillus* fajok által termelt aflatoxin-B1 (AFB1), amely a jelenleg ismert legveszélyesebb mikotoxin, valamint a főként *Fusarium*-ok által termelt zearalenon (ZEA) (WU, 2004). Előbbinek karcinogén, mutagén, teratogén és immunszuppresszív hatását igazolták, míg a ZEA az ösztrogénhez hasonló szerkezetéből adódóan hormonhatással rendelkezik, emiatt szaporodásbiológiai zavarokat okoz állatokban és emberben egyaránt (HUGHES et al., 1991; MCLEAN és DUTTON, 1995; WITHANAGE et al., 2001).

Disszertációmban egy 494 tagból álló (főként *Streptomyces* nemzetséghez tartozó) törzsgyűjtemény tagjainak AFB1 és ZEA mikotoxin bontó képességét és, az eddigi gyakorlatoktól eltérően, detoxifikációs képességét is elemeztem. A *Streptomyces* fajok biotechnológiai szempontból talán az egyik legfontosabb prokarióta csoportot képezik (BÉRDY, 2005). Ipari enzimforrásként (hidrolázok, transzferázok, észterázok) és gyógyszeripari alapanyagforrásként is jelentősek (PRAKASH et al., 2013). A *Streptomyces*-ek rendkívül széles spektrumban termelnek antibiotikumokat, de ezen kívül antifungális, antivirális és rák ellenes anyagok forrásai is lehetnek (SANGLIER et al., 1996). A vizsgált *Streptomycetales* rendbe tartozó *Streptomyces* törzseket világszerte ipari méretekben használják antibiotikum termelő

szervezetekként, de biodegradációs képességüket csak kisebb mértékben tanulmányozták (ESHELLI et al., 2015). Fentiek alapján disszertációmban az alábbi célokat fogalmaztam meg:

1. Egy 494 tételből (főként *Streptomyces* nemzetségből) álló törzsgyűjtemény tagjainak taxonómiai identifikálása, molekuláris biológiai módszerekkel (16S rDNS szekvenálás és szekvencia analízis alapján).
2. A faji szinten azonosított (döntő mértékben a *Streptomyces* nemzetséghez tartozó) törzsgyűjtemény tagjainak aflatoxin-B1 (AFB1) és zearalenon (ZEA) mikotoxin biodegradációs és biodetoxifikációs képességének vizsgálata immunanalitikai és biológiai hatásmérő módszerekkel.
3. Az azonosított és degradációs szempontból megismert törzsek antimikrobiális hatásának vizsgálata hat tesztorganizmussal (három baktérium- és három mikroszkópikus gombafaj) szemben.
4. A vizsgált *Streptomyces* törzsek toxinbontó képességének és antimikrobiális hatásának összevetése.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A sugárgombák és a *Streptomycetaceae* család

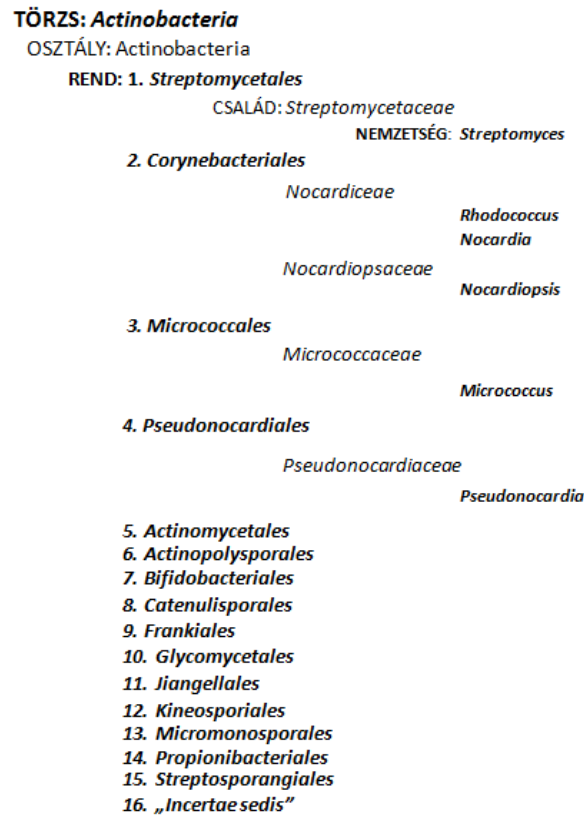
2.1.1. Történet és rendszertan

1875-ben Cohn leírt egy mikroszervezetet *Streptothrix foersteri* néven (COHN, 1875). Két évvel később, 1877-ben Bollinger szarvasmarha szájüregében talált egy kórokozót, melyet később Harz *Actinomyces bovis*-nak nevezett el (BOLLINGER, 1877; HARZ, 1879). Később kiderült, hogy a Cohn által korábban felfedezett mikroba is ebbe a nemzetségbe tartozik. A mai elnevezés tehát nem az első felfedezőtől, hanem a Harz által leírt törzstől származik (*Actinomyces* = sugárgomba; *actinos* = sugár, *mycos* = gomba). Közben azonban számos név alatt ismertették a csoportot jellegzetes morfológiai és fiziológiai tulajdonságok hiányában. Ezekből az elnevezésekből alakult ki néhány ma használatos nemzetség és családnév (STACKEBRANDT és SCHUMANN, 2006).

Sokáig vitatott volt, hogy a sugárgombák gombákként, vagy baktériumokként kerüljenek-e besorolásra, csak később igazolták, hogy a prokarióták közé tartoznak. A gombákra valódi elágazású micéliumaik miatt hasonlítanak, baktériumokkal való rokonságukat KRASZILNYIKOV és KORENJAKO (1938) *Mycobacterium* és *Mycococcus* nemzetségbe tartozó fajok vizsgálatával bizonyította. Az Amerikai Egyesült Államok Nemzeti Biotechnológiai Információs Központ (National Center for Biotechnology Information, NCBI) rendszertani besorolása szerint a sugárgombák a *Streptomycetales* rendbe, a baktériumok doménba (*Bacteria*), ezen belül az *Actinobacteria* törzsbe és az *Actinobacteria* osztályba tartozik. Az elnevezés tehát megtévesztő, mert a sugárgombák nem gombák, hanem Gram-pozitív sejtfallal rendelkező baktériumok (BERGEY és HOLT, 2000). Taxonómiájuk igen összetett és gyorsan változó terület különleges sejttani és alaktani tulajdonságaik miatt, ahol az új fogalmak és ismertetőjelek leírása a mai napig tart (LANCINI és LORENZETTI, 1993; VENTURA et al., 2007, LUDWIG et al., 2012, GOODFELLOW et al., 2012). Az utóbbi időben is nagyobb változás következett be a sugárgombák rendszertanában. A *Streptomycetaceae* család például korábban az *Actinomycetales* rendbe tartozott, ma már azonban a molekuláris vizsgálatok alapján egy külön rendbe, a *Streptomycetales* rendbe sorolják őket (GOODFELLOW et al. 2012). Az *Actinobacteriales* és a *Streptomycetales* rendek pedig az *Actinobacteria* osztály részét képezik további 14 renddel együtt (2.1. ábra).

A *Streptomycetales* rendjébe tartozó *Streptomycetaceae* család sok antibiotikum termelő fajt tartalmaz. Közülük is kiemelkedő a *Streptomyces* nemzetség, amely a *Streptomycetales* rend

egyik legtöbbet tanulmányozott génusza. A Bergey-féle baktériumhatározó 533 *Streptomyces* faj leírását tartalmazza (GOODFELLOW et al. 2012).



2.1. ábra. Az *Actinobacteria* osztály rendjeinek felsorolása, és a dolgozat szempontjából fontos családok kiemelése. Az „*Incertae sedis*” kifejezés egy még bizonytalan helyzetű rendre utal. (A szerző saját készítésű ábrája GOODFELLOW et al. 2012 munkája alapján)

2.1.2. Sejtten és morfológia

Az aktinobaktériumok (*Actinobacteria* törzs, *Actinobacteria* osztály) közé tartozó sugárgombák különleges felépítésű Gram-pozitív baktériumok (HORVÁTH, 1960; GOODFELLOW et al. 2012). Az aktinobaktériumok több, eltérő morfológiát mutató nemzetsége ismert, mint pl. a kettéosztódással szaporodó *Corynebacterium*-ok, a fonalas növekedésű, majd fragmentálódó *Mycobacterium*-ok és *Nocardia*-k (GOODFELLOW és CROSS, 1984). Az aktinobaktériumok jellegzetes ismertetőjegye, más Gram-pozitív baktériumokkal szemben, hogy DNS-ük 55 %-nál magasabb arányban tartalmaz guanin-citozin nukleotid bázisokat. Lineáris szerkezetű kromoszómájuk feltűnően nagy, 8Mb, azaz körülbelül 8×10^6 bázispár alkotja (CHAMPNESS, 2000).

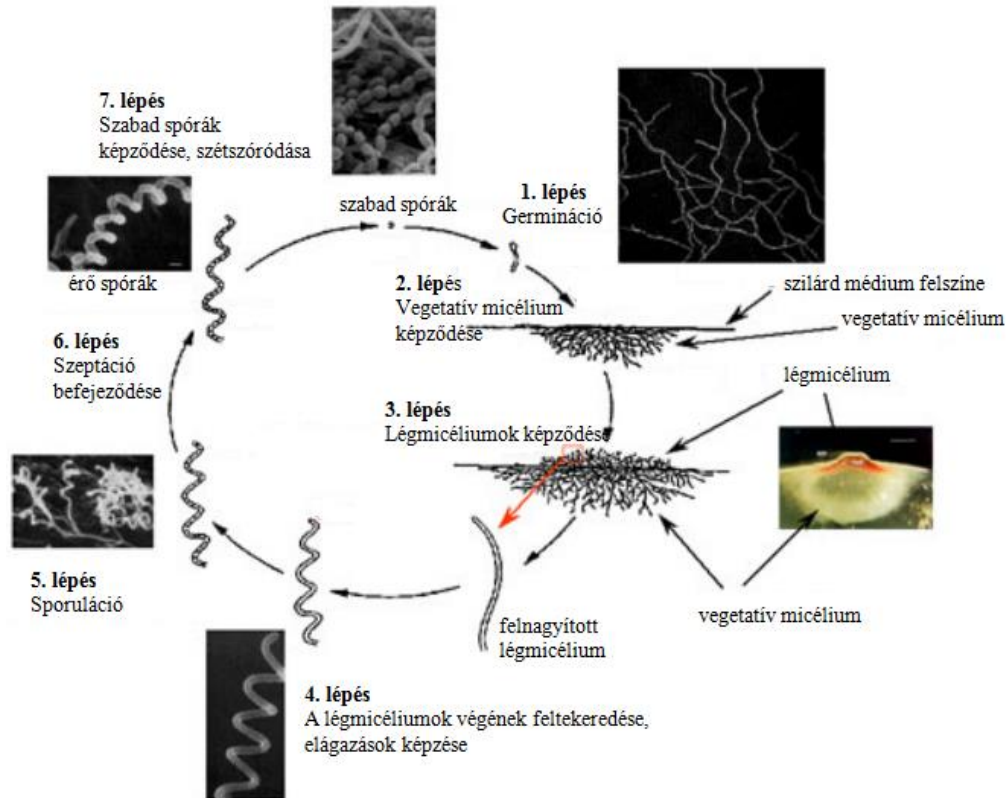
Az aktinobaktériumok osztályába (*Actinobacteria*) tartozik a *Streptomycetales* rend, és azon belül található a *Streptomyces* nemzetség. Az ide tartozó fajok sejtjeiben a lineáris szerkezetű, dupla szálú DNS szabadon helyezkedik el. A mikroszervezetekben további rövid, cirkuláris, önálló, replikációra képes DNS molekulák, azaz plazmidok is előfordulhatnak. A plazmidok

környezetváltozás esetén gyorsabb adaptációs ill. védelmi képességet biztosítanak a baktériumsejtnak (pl.: antibiotikum rezisztencia gének, toxinok és enzimek termeléséért felelős szakaszok) (PESTI et al., 2001), sőt sok esetben a baktériumok degradációs képessége is plazmidon kódolt (LATHA és LALITHAKUMARI, 2001). Bizonyos mikroszervezetek a kromoszómáknál kisebb, de a plazmidoknál nagyobb méretű replikont, ún. chromidot is tartalmazhatnak, melyek szintén fontos, a sejt működése szempontjából elengedhetetlen géneket (génszakaszokat) foglalnak magukba, ám az *Actinobacteria* törzsben még nem mutattak ki ehhez hasonlót (MERGEAY és HOUDT, 2012).

A *Streptomyces* nemzetség fajai pálcika vagy gömb alakú, de megnyúlásra és ritkán egyszerű elágazásra képes sejtek, vagy gombamicéliumhoz hasonlóan erősen elágazó, vékony fonalakkból álló szervezetek (WILLIAMS, 1978). A fonalaik átmérője 1-1,5 μm (LINDNER, 1977). A szaporodás kettéosztódással, a fonalak feldarabolódásával, vagy légmicéliumok végén egyesével, kettesével, vagy gyöngyfüzérszerűen többesével keletkező spórákkal történik. Sejtfaluk sem kitint, sem cellulózt nem tartalmaz, hanem peptidoglikánokból, pontosabban mureinből állnak. A *Streptomyces*-ek megkettőződési ideje optimális körülmények között átlagosan 1,7 nap, azaz a lassan növekedő mikroszervezetek közé sorolhatók (WILLIAMS, 1978).

A *Streptomycetaceae* család tagjai elágazó, kiterjedt, táptalajba mélyedő vegetatív- vagy szubsztrát micéliumot és levegőbe emelkedő generatív légmicéliumot képeznek. A sugárgombák egyedfejlődése a 2.2. ábrán kerül bemutatásra. A spórából kisarjadt fiatal vegetatív hifa elágazik (1. lépés, 2.2. ábra), általában erősen belenő az agaros táptalajba (2. lépés, 2.2. ábra), ezért átoltáskor egyszerre felemelhető és átvihető az így képződött telep. Továbbá nem törik kisebb darabokra és nem kenhető szét. A légmicélium általában egy hosszú, ötven spóránál is többet magába foglaló egyszálú spóralánc, de ez néhány fajnál rövidebb is lehet. Míg a *Streptomyces*-eknél igen fejlett a légmicélium, addig a már említett szintén aktinobaktériumok közé sorolható *Nocardia* fajoknál például fejletlen, alig vagy egyáltalán nem differenciált képletekből áll. A légmicélium növekedése a képződött telep közepén a legsűrűbb vegetatív micéliumokból indul ki (3. lépés, 2.2. ábra), melyek kezdetben apró, fénytörő testek. A szubsztrát micéliumnál - melyből hosszabb fonalak nőnek ki - sokkal vastagabb felépítéssel rendelkezik. Fajtól függően több-kevesebb oldalelágazást mutatnak (HORVÁTH, 1960). A spóratartókat a steril léghifák hordozzák, melyek spórákra tagolódott léghifákból kialakult spórafüzérek (artospórák, konídiumok, nem valódi endospórák, 5. lépés, 2.2. ábra). A spórákat egy kétrétegű burok veszi körül, melynek a belső rétege kitin pálcikákból kirakott mozaik, külseje pedig lipidréteg, ami a spórák hidrofób jellegét okozza (GOODFELLOW és CROSS, 1984). A spórafüzérek lehetnek egyenesek, hajlottak, szabálytalanul görbék (rectus flexibilis típusúak) és spirálisan vagy

kacsszerűen tekeredők (spirál és retinaculum, vagy aptertum típusúak). Egyes fajoknál a léghifák örvös elágazásúak (verticillátus). A spórafüzérek differenciálódása után (szeptáció, 6. lépés) megindul a spórák érése. Az érett spórák végül szabad spórák formájában szétszóródnak (7. lépés), melyekből később újra megindulhat a csírázás (1. lépés).



2.2. ábra. Az *Streptomycetaceae* családhoz tartozó *Streptomyces* nemzetség egyedfejlődése a szabad spórás állapottól a differenciálódott légmicéliumokból képződött szabad spórák szétszóródásáig (http1).

Az éretlen légmicélium színe általában jellegtelen fehér, viszont az éretteknek jellegzetes, fajra jellemző színe lehet (SZABÓ, 1998). Termelhet barnássárga, kék, zöld és sárgáspiros pigmentet (HORVÁTH, 1960), valamint a tápközegbe vízdékony színanyagokat is kiválaszthat, mely pigmenteket az 1980-as évek végéig fajra jellemző bélyegként használtak. Számos speciális összetételű tápközeget ismerünk és alkalmazunk a gyakorlatban, melyek elősegítik a *Streptomyces*-ek pigment termelését és sporulációját (SZABÓ, 1998). A micéliumtelepek morfológiai és fiziológiai jellege igen sokféle és erősen változékony, így az erre épülő osztályozásuk bizonytalan.

2.1.3. A sugárgombák ökológiája

A *Streptomycetales* rend tagjainak nagyobb része talajban (vagy vízben) élő szaprofita (lebontó) baktérium, és csak kisebb részük emberi, állati vagy növényi kórokozó (ÁROKSZÁLLÁSY et al., 1968; GOODFELLOW és WILLIAMS, 1983). Kimutathatók ezen

kívül tavak vizében és iszapjában (FERNANDEZ, 1982), folyóvizekben (FARKAS, 1982), illetve izolálták már őket a tengerek vizéből és a tengerfenék üledékéből is (OKAMI és OKAZAKI, 1978; MINCER et al., 2002). Megtalálhatóak továbbá a vízi és szárazföldi állatok, valamint az ember bélflórájában is (MÁRIALIGETI és RAJKI, 1982; RAJILIC-STOJANOVIC et al., 2007). A termofil fajok gyakran fordulnak elő természetes meleg élőhelyeken, mint a komposzt vagy a széna halmok belseje (GOODFELLOW és WILLIAMS, 1983). A sugárgomba spórák a légkörben is megtalálhatóak és allergiás reakció kiváltására is képesek lehetnek (JONES és HARRISON, 2004).

Ökológiailag igen jelentős szervezetek. Nagy szerepük van a szerves anyagok ásványosítási folyamatai révén a kémiai elemek körforgásában, a bioszféra öntisztulásában, detoxifikálásában, és a mezőgazdasági termőtalajok minőségének alakulásában. Ennek következtében azonban a műtárgyak, textíliák, festmények, könyvek, bőrkészítmények, fadaragványok, épületburkolatok, szobrok, műszerek, gépek és az ipari termékek károsítói és pusztítói is lehetnek (SZABÓ, 1998).

A sugárgombák talajéletben betöltött szerepe talán a legfontosabb tevékenységük. Mérsékelt övi klímazónában egyedszámuk optimális létfeltételek között 10^{13} - 10^{15} sejt/m² talajszelvényre vonatkozóan, élőtömeg értékük 100-500 g/m². Talajban élő csoportjaik exoenzim termelésükkel képesek pektin, kitin, keratin, latex és más szerves molekulák bontására, így részt vesznek a szerves anyagok mineralizálásában (McCARTHY és WILLIAMS, 1992). Illékony összetevők termelésével a talajnak jellegzetes szagot ("avar illatot") kölcsönöznek pl. geozmin által (DYSON, 2011; ADEGBOYE és BABALOLA, 2012).

Számos esetben szerves foszforvegyületeket is képesek mineralizálni. A felszabadított foszfort immobilizálják (RAO et al., 1982). A baktériumok talaj aggregátumok kötőanyagaiként is szolgálnak. Hifáikkal átszövik a morzsás szerkezetű talaj felületét és vázelemeit, összekötve a talajkomponens mikro- és mezoaggregátumait (PAUL, 2006). Ez a folyamat a mezőgazdasági talajok kedvező morzsaszerkezetének kialakulása miatt is rendkívül fontos. Közreműködnek továbbá a peszticid molekulák átmeneti eltávolításában (BENIMELI et al., 2008). Hifafonalaik például a talajban található dieldrint vagy DDT-t a környezet szintjénél jóval nagyobb koncentrációban halmozzák fel, így azonban a veszélyforrás a bioakkumuláció mellett továbbra is a környezetben marad (FUENTES et al., 2010; JAYABARATH et al., 2010; LIN et al., 2011).

A *Streptomyces* genusz fajai az egyik legelterjedtebb baktériumcsoport a természetben, a Föld szinte minden talajában előfordulnak (SZABÓ, 1998). Nagy számban megtalálhatók növények levelein és más föld feletti részein. Bizonyos *Streptomyces* fajok megkötik a N₂-t (BAKER, 1983), megbontják a növényi viaszokat, növekedésszabályozó anyagokat termelnek, növényparaziták ellen antagonistaként lépnek fel, továbbá serkentik a gazdaszervezet fitoalexin

termelését, melyet a növény mikrobiális támadás ellen védőanyagként termel (SZABÓ, 2008). A genuszhoz tartozó fajok növényi megbetegedést is okozhatnak, mint például a sugárgombás varasodás, melyet a *Streptomyces scabiei* faj indukál (LORIA et al., 1997). Emberi kórokozók is megtalálhatóak a génusz tagjai között (pl. *Streptomyces somaliensis*), melyek főleg gennyes bőrduzzanatot (aktinomicetóma) okozhatnak (McNEIL és BROWN, 1994). A humán gyógyászatban ismert számos *Streptomyces* fertőzés (pl. *Streptomyces griseus*), melynek során főleg beteg vagy gyenge szervezetű egyének tüdejét és idegrendszerét támadja meg a kórokozó (DUNNE et al., 1998).

2.2. A *Streptomyces* fajok antimikrobiális hatásai

A *Streptomyces* génusz tagjai antibiotikus hatásukkal hívták fel magukra a kutatók figyelmét. Napjainkban ezért leginkább bakteriális fertőzések kezelésére, illetve rákellenes, antiparazita és immunszuppresszív, vagyis az immunrendszert gátló gyógyszerek készítéséhez használják fel a másodlagos anyagcsereterméként termelt antimikrobiális származékokat. A gyógyászatban használt antimikrobiális szerek közel 80%-át sugárgombák, azon belül is főleg *Streptomyces* fajok termelik (HOPWOOD, 2007). Az antimikrobiális szerek mellett egyéb másodlagos anyagcseretermékeket is termelhetnek, például nyálkaanyagot, pigmentet, tokanyagokat és akár toxinokat is.

2.2.1. Az antibiotikumokról általánosan

Az antibiotikumok olyan mikroszervezetek által termelt másodlagos anyagcseretermékek, melyek más mikroorganizmusokat elpusztítanak, szaporodásukat, illetve egyéb életfolyamataikat és növekedésüket úgy gátolják, hogy ezt az antibiotikummal kezelt szervezet károsodás nélkül elviseli (WALSH, 2003).

Az antibiotikumok speciális hatással bíró gyógyszerek lehetnek. Fertőzés útján megszerezhető betegségeket gyógyítanak, de a többi gyógyszerrel ellentétben nem a termelő szervezetre fejtik ki hatásukat, hanem a kórokozókra. A betegséget a patogén mikroorganizmusok elpusztításával szüntetik meg, tehát a kiváltó okot megszüntető gyógymódot jelentenek. Hatásának alapja a szelektív toxicitás, vagyis a szer legyen erősen toxikus a kórokozóra és nem vagy alig ártalmas a termelést végző szervezetre. Ez csak úgy lehetséges, hogy toxikus hatásukat olyan sejtalkotórészekre fejtik ki, amely a termelő szervezet sejtjeiben nincs (pl. a merev sejtfal), vagy olyan életfolyamatait gátolja, amely a célszervezetben másképp megy végbe (pl. fehérjeszintézis, nukleinsav szintézis) (GRABER, 1990). Napjainkban a legtöbb antimikrobiális hatású szert félszintézissel, főként fermentációs eljárások (batch) útján gyártják, vagyis az alapvegyületet

mikroorganizmusokkal termeltetik, majd kémiai átalakítással állítják elő a gyógyszerként használt származékot. Az antibiotikumokat többféle szempontból csoportosítjuk (2.1. táblázat).

2.1. táblázat. Az antibiotikumok lehetséges csoportosításai. (LANCINI és LORENZETTI, 1993; CALDERÓN és SABUNDAYO, 2007).

Hatásspektrum	Hatásmechanizmus
<ul style="list-style-type: none"> Gram-pozitív, vagy -negatív, speciális törzsekre ható Gombaellenes Vírusok ellen ható antibiotikumok 	<ul style="list-style-type: none"> Sejtfalszintézis Membrántranszport Membránfunkció Fehérjeszintézist befolyásoló, illetve gátló (streptomycin) DNS-függő RNS polimerázra hat DNS replikációra hat
Termelő törzsek	Kémiai szerkezet
<ul style="list-style-type: none"> Sugárgombák Egyéb baktériumok Gombák által termelt antibiotikumok 	<ul style="list-style-type: none"> Szénhidrát származékok: Sztreptomycin, Vankomicin Makrociklusos laktonok: Eritromicin Kinonok: tetraciklinek, Mitomicin Aromás: Kloramfenikol Szteránvázas, terpénvázas (utóbbiak az előbbiekből vezethetők le) Aminosavak, peptidek: Cikloszerin, Bacitracin, β-laktám antibiotikumok

A másodlagos bakteriális anyagcseretermékek, így az antibiotikumok termelése nem kapcsolódik közvetlenül a sejt energia- és anyagtermeléséhez, mivel döntő mértékben a tenyésztés későbbi szakaszában fordul elő. Sokszor kedvezőtlen környezetváltozás hatására indul be a termelődése (eltolt pH, egyes anyagcseretermék felhalmozódása, stresszhatás, stb.), ha a szokványos anyagcsere utak nem működnek rendesen (DEMAIN, 1992). A szekunder metabolizmus beindulását segíti, ha kis mennyiségű, vagy nehezen hozzáférhető a mikroorganizmus számára a szénforrás (a bőséges szénforrás az elsődleges anyagcseretermékek keletkezésénél játszik nagyobb szerepet), valamint ha a nitrogénforrás szerves eredetű (szójaliszt, kukoricalekvár) és folyamatosan alacsony szinten tartják (a sok N a növekedésnek kedvez, az ammónium-sók pedig gátolják a termékképződést) (CRUEGER és CRUEGER, 2006). Szervetlen foszfát jelenlétében a szekunder metabolizmus nem kezdődik el. Ha a szervetlen foszfátból csupán a szaporodáshoz szükséges mennyiséget biztosítjuk, hasznosulás után már hiányként jelentkezik, és a stresszhatás eredményeként a másodlagos anyagcsere termelés stimulálódik (DEMAIN, 1992).

2.2.2. Az antibiotikumok felhasználása

Az első antibiotikum, amit aktinobaktérium tenyészetből izoláltak, az actinomicin (1940) volt, mely igen toxikusnak bizonyult, azonban további kutatások után a sztreptomycin felfedezésével sikerült kevésbé toxikus szert találni (WAKSMANN, 1952; BORDERS, 2007).

A legtöbb antibiotikumot humán gyógyászati célra állítják elő, mikrobiális fertőzések gyógyítására. Egyes antibiotikumoknak ismert tumor ellenes hatásuk is van, emiatt ezeket a klinikai gyakorlatban rákellenes, illetve azt gátló anyagokként használják (citosztatikumok, pl. aktinomicin, adriamicin, daunomicin, kromomicin, mitramicin, mitomicin, bleomicin és neokarcinosztatin) (CARTER et al., 2012).

Megkülönböztetünk széles hatásspektrumú antibiotikumokat, amelyek sok különböző szervezet ellen (tartósan) hatásosak, illetve szűk hatásspektrumúakat, melyek szelektíven, csak meghatározott kórokozócsoporttal szemben hatékonyak. A különböző területeken felhasznált antibiotikumok mindegyikénél előfordulhat rezisztencia, vagyis a célzott mikroszervezeteknél ellenálló képesség alakulhat ki antibiotikummal szemben (FISCHBACH és WALSH, 2009).

A növényvédelmi célra használt antibiotikumok előnye a növényvédőszerrel szemben, hogy kis koncentrációban és szelektíven hatnak. Toxicitásuk a melegvérűekre és a hasznos rovarokra nagyon kicsi, és a talajmikroorganizmusok könnyen lebontják őket. Ilyen antibiotikumok például a blaszticidin, polioxinok, prumicin, cikloheximid, kasugamicin, validamicin és a tetranaktin (WOODBINE, 1977), de a rezisztencia terjedése miatt alkalmazásuk manapság korlátozott.

Az antibiotikumoknak az élelmiszertartósításban való felhasználása erősen függ az érintett országok jogi szabályozásától. Az Európai Unió tagországaiban például már nem engedélyezik antibiotikumok használatát az élelmiszerkonzerválásban. A konzerváláshoz a következő vegyületeket használták korábban: pimaricin (felületek konzerválásához használt fungicid), tilozin (*Bacillus* spórák ellen), nizin (*Clostridium*-ok ellen) és klórtetraciklin (hal, hús és szárnyasok frissen tartásához vagy pácoláshoz volt használatos) (JAY, 1998).

A jobb takarmányértékesítés és gyorsabb tömeggyarapodás érdekében a takarmányhoz szubterápiás koncentrációban keverhetnek antibiotikumot. Az antibiotikum megváltoztatja a gyomor-bél rendszer mikrobiótáját, ami hatékonyabb tápanyaghasznosítást eredményez. A csírámentesen fölnevelt állatokban ezt a gyorsabb tömeggyarapodást nem tapasztalták. Eleinte a gyógyászatban használt antibiotikumokat egyre több helyen és nagy mennyiségben keverték a takarmányokhoz is. Ez a folyamat a rezisztencia gyorsabb kialakulásához vezetett (WEGENER, 2003). Napjainkban jogszabályok tiltják, hogy ugyanazokat az antibiotikumokat a humán

gyógyászatban és takarmányadalékként is fel lehessen használni. Az állatgyógyászatra is ezek az elvek érvényesek. Napjainkban a nutritív célú állattakarmányozási felhasználás európai döntés értelmében nem megengedett: 2006. január 1-től az Európai Unió korlátozta az antibiotikum jellegű takarmánykiegészítők (kivéve kokcidiosztatikumok és hisztomonosztatikumok) alkalmazását, és eltávolította azokat az engedélyezett készítmények Közösségi Nyilvántartásából (CASTANON, 2007). Takarmányadalék például az enduracidin, mikamicin, siomicin, tiopeptin, tiosztrepton, virginiamicin és a tilozin. Állatorvosi gyakorlatban hasznosított antibiotikum például a higromicin B, thiosztrepton, tilozin, lazalocid és a szalinomicin (PERLMAN, 2012).

A biokémiában és a molekuláris biológiában használt antibiotikumok közé tartoznak a szelektív inhibitorok, melyek meghatározott sejtfunkciók tisztítására alkalmasak (pl. transzkripció, transláció, DNS-replikáció és a sejtfaleszintézis) (CRUEGER és CRUEGER, 2006; COZZARELLI, 1977; KIMURA és BUGG, 2003).

2.2.3. A *Streptomyces* nemzetség antimikrobiális hatást kiváltó képessége

A *Streptomyces* fajok által termelt antibiotikumok többsége nem az aktív kolónianövekedés idején szintetizálódik, hanem a sejtek növekedésének lassulásakor. A szilárd felszínen növekedő telepek esetén ez az időpont egybeesik a légmicéliumok képzésével, folyékony kultúrában pedig a szaporodás exponenciális fázisából a stacioner fázisba történő átlépéskor. Az antibiotikum termelés időzítése arra vezethető vissza, hogy a termelő szervezet ilyenkor lép fel a vele azonos ökológiai niche-ért (életterért) kompetícióban lévő mikroorganizmusokkal szemben, amelyek egyébként elvonnák a gazdaszervezet elől a szubsztrát micélium lizisekor felszabaduló tápanyagokat (CHATER és MERRICK, 1979). A *Streptomyces* nemzetség számos fajáról bizonyítottak antibiotikum termelést (2.2. táblázat) (LAZZARINI et al., 2000; WATWE et al., 2001; DE LIMA PROCOPIO et al., 2012).

2.2. táblázat. A *Streptomyces* fajok által termelt ipari szempontból jelentős antibiotikumok. (HOPWOOD, 2007).

Ipari szempontból	jelentősebb törzsek neve	A hatásos anyag neve
	<i>Streptomyces rimosus</i>	Oxitetraciklin
	<i>Streptomyces griseus</i>	Sztreptomycin
	<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Aureomicin
	<i>Streptomyces venezuelae</i>	Klóramfenikol
	<i>Streptomyces noursei</i>	Nisztatin
	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	Kanamycin
	<i>Streptomyces fradiae</i>	Neomicin
	<i>Streptomyces erythreus</i>	Eritromicin
	<i>Streptomyces cinnamomensis</i>	Monensin
	<i>Streptomyces niveus. Str spheroides</i>	Novobiocin

2.3. A biodegradáció mint lehetséges bioremediációs módszer

Biodegradáció alatt a mikroszervezetek biokémiai anyagcsere folyamatai révén végbemenő lebontási (katabolikus) és átalakítási (transzformációs) folyamatok összességét értjük (SZOBOSZLAY, 1995; CRAWFORD, 1996; SZOBOSZLAY és KRISZT 2010). A biodegradációt befolyásolja a szennyezőanyag kémiai szerkezete és hozzáférhetősége, valamint a megfelelő mikroszervezetek kiválasztása is (ANTON, 2010). A talajok biológiai közösségei igen rugalmas adaptációs rendszert képeznek az idegen és az új kémiai szerkezetek lebontására, hatástalanítására (SZABÓ, 2008). A mikroorganizmusok képességeit kihasználva lehetőség nyílik arra, hogy a mesterséges úton a környezetbe kerülő szennyezőanyagokat környezetkímélő módon elimináljuk (CRAWFORD, 1996).

Megkülönböztetünk teljes és részleges biodegradációs folyamatokat. Előbbi esetben a kiindulási szerves vegyület CO₂-ra és vízre oxidálódik energia keletkezése mellett. Részleges biodegradáció esetén több tényező miatt nem mehet végbe a teljes lebontási folyamat. Az első esetben hiányozhat hozzá valamely szükséges enzim, így a degradáció megreked, azonban a keletkező energiát a mikrobák képesek hasznosítani. A második esetben a kiindulási vegyületet a mikrobák nem képesek olyan mértékben degradálni, hogy számukra hasznosítható energiát nyerjenek belőle. Ezt kometabolizmusnak nevezzük. A harmadik esetben pedig a kiindulási vegyület egy komplexebb és stabilabb vegyületté alakul át. A biodegradáció tehát soklépéses bontó folyamatok során biztosítja a toxikus szennyezőanyagok lebomlását és ártalmatlanítását (ANTON, 2010).

Bizonyos esetekben a xenobiotikum bontás az eredetinel még toxikusabb köztiterméket, vagy végterméket eredményez, ez a kockázat a kőolajszármazékoktól a peszticidekig sok vegyi anyagnál és a természetes toxinoknál is előfordulhat. Emiatt lényeges a biodegradációs képesség monitorozása mellett a biodetoxifikáció nyomon követése is. A biodegradáció és a biodetoxifikáció fogalma szorosan kapcsolódik egymáshoz. Biodetoxifikáció során egy mikroorganizmus képes egy vegyület olyan mértékű degradációjára, hogy az már egészségkárosító hatással sem bír (CRAWFORD, 1996), vagyis a közti, illetve bomlástermékei környezeti kockázatot nem hordoznak.

2.3.1. A *Streptomyces* nemzetség biodegradációs képessége

Talajlakó baktériumokról lévén szó, részt vesznek a szerves anyagok mineralizálásában, valamint exoenzim termelésüknek köszönhetően képesek a pektin, kitin, keratin, latex és más szerves molekulák bontására. A *Streptomyces* nemzetség fajairól több tanulmány is kimutatta,

hogy hatékonyan alkalmazhatók különböző műanyagok, valamint toxikus és szennyező anyagok biodegradációjára (2.3. táblázat). Az egyik legkiterjedtebb kutatási terület a műanyagok lebontására vonatkozik. Néhány törzsük bioműanyagok közül a poli-3-hidroxialkanoát (PHA), a poli-3-hidroxi-butirát (PHB), és a poli-3-hidroxi-butirát-ko-hidroxi-valerát (PHBV) vegyület-csoportokat, továbbá természetes gumit sikeresen bontott (GALLERT, 2000). Számos fajuk

2.3. táblázat. Különböző *Streptomyces* fajok által bontott anyagok listája (Szerzői gyűjtés).

<i>Streptomyces</i> faj	Bontott anyag	Irodalmi hivatkozás
<i>Streptomyces exfoliatus</i>	poli-3-hidroxi-alkanoát (PHA)	Klingbeil et al., 1996
<i>Streptomyces</i> sp. SNG9	poli-3-hidroxi-butirát (PHB), poli-3-hidroxi-butirát-ko- hidroxi-valerát (PHBV)	Mabrouk & Sabry, 2001
<i>Streptomyces omiyaensis</i>	poli-3-hidroxi-butirát-ko- hidroxi-valerát (PHBV)	Hermida et al., 2009
<i>Streptomyces albogriseolus</i> , <i>Streptomyces viridodiataticus</i> .	latex és természetes gumi	Gallert, 2000
<i>Streptomyces iakyrus</i> , <i>Streptomyces aveblanens</i> , <i>Streptomyces warraensis</i> , <i>Streptomyces misioensis</i> , <i>Streptomyces humidus</i> , <i>Streptomyces parvullus</i> , <i>Streptomyces aburaviensis</i> , <i>Streptomyces nigellus</i>	polietilén	El-Shafei et al., 1998
<i>Streptomyces viridosporus</i> , <i>Streptomyces badius</i> , <i>Streptomyces setonii</i>	polietilén	Pometto et al., 1992
<i>Streptomyces griseus</i>	poliaromás szénhidrogének (PAH)	Cerniglia, 1993
<i>Streptomyces</i> sp. M7	lindán	Benimeli et al., 2008
<i>Streptomyces cyaneus</i>	azo-vegyületek	Moya et al., 2010
<i>Streptomyces fimicarius</i>	forbol-észter	Wang et al., 2013
<i>Streptomyces</i> sp.	propoxur	Rahmansyah et al., 2012
<i>Streptomyces</i> sp.	aldrin, chlordane, DDD (diklór- difetil-diklóretán), DDE (diklór-difenil-diklóretilén), DDT (diklór-difenil-triklóretán), dieldrin, heptachlor, H. epoxide A, H. epoxide B, lindane, metoxichlor	Benimeli et al., 2003
<i>Streptomyces griseus</i> , <i>Streptomyces rimosus</i> , <i>Streptomyces rutgersensis</i> , <i>Streptomyces heliomycini</i> , <i>Streptomyces lividans</i> , <i>Streptomyces aurofaciens</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	mikotoxinok (zearalenon, aflatoxin-B1)	El-Sharkawy és Abul-Hajj, 1988; Krifaton et al., 2013; Eshell et al., 2015; Lahoum et al. 2017

képesnek bizonyult továbbá mesterséges polietilén vegyületek biológiai lebontására (EL-SHAFFI et al., 1998). Szennyező anyagok közül a karcinogén policiklikus aromás szénhidrogének (PAH) lebontását a *Streptomyces griseus* fajnál mutatták ki (CERNIGLIA, 1993). A textilipar által termelt ipari szennyvízben gyakran felbukkannak különböző rákkeltő, nehezen bomló azo-vegyületek, melyek biodegradációjában a *Streptomyces cyaneus* bizonyult hatékonynak (MOYA et al., 2010). Továbbá növényvédő szerek bontásánál alkalmaztak *Streptomyces* törzseket sikeresen (BENIMELI et al., 2003).

Az elmúlt néhány évben bizonyos *Streptomyces* fajokról kimutatták, hogy mikroszkopikus gombák által termelt mikotoxinokat képesek bontani (EL-SHARKAWY és ABUL-HAJJ, 1988; KRIFATON, 2011, ESHELLI et al., 2015, LAHOUM et al., 2017). Korábban csak kevés kutatás fókuszált a *Streptomyces*-ek mikotoxin bontó képességére, de az előzetes eredmények alapján a csoport ígéretes lehet ezen a területen. A korábbi, mikotoxikózis megelőzését célzó tanulmányok főleg arra koncentráltak, hogy a toxint termelő gombát gátolják mikroorganizmusok által (MEGHARAJ et al., 1997). YEKKOUR et al., (2012) például toxintermelő gombák elleni antagonisztikus hatást mutattak ki ennél a baktérium csoportnál. A *Streptomyces griseoplanus* egyik törzse pedig hatékonyan gátolta az *Aspergillus flavus* gomba fajban az *aflM* gének expresszióját, ami így közvetve az AFB1 termelését akadályozta meg (VERHEECKE et al., 2015).

2.4. Mikotoxinok bemutatása

A mikotoxinok mikroszkopikus gombák, főleg fonalas penészgombák által termelt másodlagos anyagcseretermékek, melyek mind a humán, mind pedig az állati szervezetre károsak, továbbá a terményeket is károsítják (WILD és GONG, 2010). Ellenállóak a magas hőmérséklettel szemben, sőt a gyomorsav sem tudja lebontani őket. Képesek a májban és a vesében akkumulálódni, továbbá igen erős sejtmérgek. Kimutatásuk nehéz, mert kis koncentrációban vannak csak jelen, illetve még sok az ismeretlen mikotoxin, amelyeket analitikai módszerekkel egyelőre nehéz és költséges elkülöníteni, és ezáltal vizsgálni (JUHÁSZ et al., 2001, VARGA et al., 2011). Mára több mint 5000 gombafajról bizonyított, hogy gazdasági növényeket károsíthat (MARÁZ, 2001). Ezen belül 350 mikotoxinogén fajt mutattak ki, melyek több mint 400 különböző környezetre veszélyes mikotoxint termelnek (DEÁK, 2006; MÉZES és BALOGH, 2010).

A mikotoxinok állatokra és emberekre nézve egyaránt bizonyítottan ártalmasak. Az állati takarmányok mikotoxin-szennyezettsége világméretű problémát jelent, hiszen ezek az anyagok

az állatokat súlyosan megbetegíthetik, és ezáltal jelentős mértékben befolyásolják a termelékenységet. A mikotoxinok megtalálhatóak az élelmiszerekben is, aminek veszélyes egészségkárosító hatásai lehetnek. Előfordulhat, hogy egyszerre több mikotoxint is tartalmazhatnak, amelyek akár szinergista hatásúak is lehetnek (AMBRUS és SZEITZNÉ, 2008).

A mikroszkopikus gombák nagy számban vannak jelen a természetben. Előfordulásukat nagyban befolyásolja az éghajlat és egyéb környezeti tényezők (BATILLANI et al., 2016). Egyes gombák jobban kedvelik a magasabb hőmérsékletű nedvesebb területeket, ez nagyban erősítheti a mikotoxin szennyezettség mértékét és kialakulását az egyes mezőgazdasági területeken. Megjelenésük és kártételük mértéke változhat a mezőgazdasági növények típusa szerint is, hiszen egyes penészgombák fajspecifikusak. A gazdasági szempontból is fontos mikotoxinokat főleg *Fusarium* sp. és *Aspergillus* sp. fajok termelik. Az egyes penészgombák több különböző mikotoxin termelésére is képesek. A penészgombák elsősorban szántóföldi és raktárban tárolt gabonákat, terményeket fertőznek (pre- és post harvest). Így a védekezést már a termesztés elején el kell kezdeni (megelőzés fontos), hiszen a mikotoxinok képesek a bioakkumulációra (szennyezőanyag szervezetben történő feldúsulása), majd a táplálékláncba kerülve biomagnifikációra (szennyezőanyag koncentrációjának növekedése a táplálékláncban) is. Vagyis a mikotoxinok a táplálékláncba kerülve továbbra is megtartják toxicitásukat, így különösen fontossá vált azok kivonása a takarmányokból, illetve élelmiszereinkből. Különösen igaz ez az aflatoxin-B₁-re, az ochratoxin A-ra, a deoxinivalenolra, a T-2 toxinra és a zearalenonra (KOVÁCS, 2001).

A dolgozatomban a zearalenon és az aflatoxin-B₁ mikotoxinok biodegradációjával foglalkoztam, ezért az alábbi fejezetekben ezt a két mikroszennyezőt mutatom be részletesen.

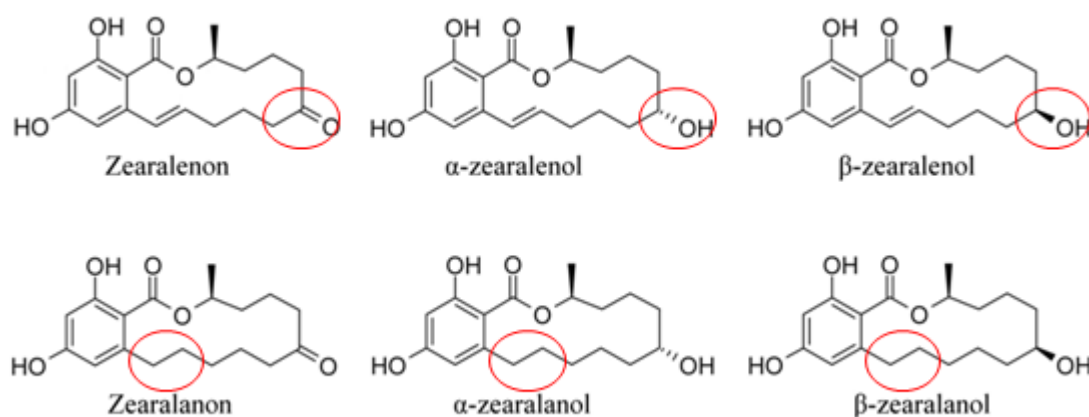
2.4.1. Zearalenon

A mérsékelt éghajlatú országokban elsősorban a *Fusarium* nemzetség által megtermelt toxinok okoznak jelentős állat- és humánegészségügyi kockázatot. A *Fusarium* sp. az összes mikotoxin termelő csoport közül a legjelentősebb, ugyanis ez a nemzetség felelős a mikotoxin-termelés egyharmadáért (DEÁK, 2006).

A ZEA vagy más néven F-2 toxin szerkezetét tekintve rezorcilsav-lakton, mely főleg a *Fusarium graminearum* és a *F. culmorum* által termelt mikotoxin. Számos gabonanövényt és az azokból származtatott élelmiszeripari terméket fertőzhet meg (KUIPER-GOODMAN et al., 1987; BOTTALICO, 1998). A ZEA biológiai hatásait tekintve változatos, hormonháztatást

befolyásoló hatásának (ED) köszönhetően származékaival együtt főként ivarzási problémát okoz (GROMADZKA et al., 2008).

A ZEA derivátumainak (származékainak) azért lehetnek szaporodásbiológiai hatásai, mert biológiai aktivitása nagyon hasonló a természetes 17- β -ösztradiolhoz és a szintetikus 17- α -etinilösztadiolhoz (MITTERBAUER et al., 2003). Az ösztrogénhatás mellett feltételezhetően karcinogén ZEA további aggodalomra okot adó hatásokkal is rendelkezik (WITHANAGE et al., 2001): modellállatokon máj- és vesekárosodást (ČONKOVÁ et al., 2001), valamint immuntoxicitást és további ED hatást is kimutattak (BEREK et al., 2001). A ZEA átalakulása során toxikusabb másodlagos metabolitok keletkeznek, például alfa-zearalenol és béta-zearalenol (2.3. ábra). Az alfa-zearalenol négyszer aktívabb ED hatás tekintetében, mint a ZEA (MÁTRAI et al., 2003). A toxin szervezetbe kerülését követően könnyen megkötődik a bélrendszerben, majd a sejteken belül tovább alakul metabolitjaira, melyek aztán a glükuronsavval kapcsolódnak. Ez a glükuronid megkötődik a bélnyálkahártya-sejtjeiben, majd a májba jut, onnan pedig a véráramba kerül. Ez a hepatikus keringés okozza a toxin elhúzódó visszatartását, így gátolja eliminációját és fokozza a káros hatások időtartamát (D'MELLO et al., 1999). Vagyis a ZEA bomlástermékei a kiindulási toxinnal is kockázatosabbak lehetnek.



2.3. ábra. A zearalenon és származékainak kémiai szerkezete. A piros karikák a különbségeket jelzik (BRAVIN et al., 2009).

Az ezredforduló idején felfedeztek több olyan mikroorganizmust, melyek képesek a ZEA detoxifikálására. A *Trichosporon mycotoxinivorans* egy olyan élesztő törzs, amely képes a ZEA-t nem toxikus metabolitokká oxidálni (MOLNAR et al., 2004). A *Clonostachys rosea* laktonohidroláz enzimje csökkenti a ZEA ösztrogén hatását (TAKAHASHI-ANDO et al., 2004). A C-4 hidroxil csoport módosításával a *Cunninghamella bainieri*, *Rhizopus arrhizus*, *Thamnidium elegans* és *Mucor bainieri* baktérium törzsek képesek a toxin hormonhatását megszüntetni (McCORMICK, 2013). A ZEA teljes lebontását már megfigyelték földgáz termőhelyről

származó mikroorganizmusok kevert kultúrájában, de az egyedi izolátumok már nem voltak erre képesek. *Clonostachys*, *Rhodococcus*, *Nocardia*, és *Trichosporum* törzsek esetében feljegyezték a ZEA egyedüli szénforrásként való felhasználását (McCORMICK, 2013). Az általam vizsgált *Streptomyces* nemzetség egyes fajainál (*Streptomyces griseus*, *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces rutgersensus*) is kimutattak kisebb mértékű bontást (EL-SHARKAWY és ABUL-HAJJ, 1988; KRIFATON et al., 2013).

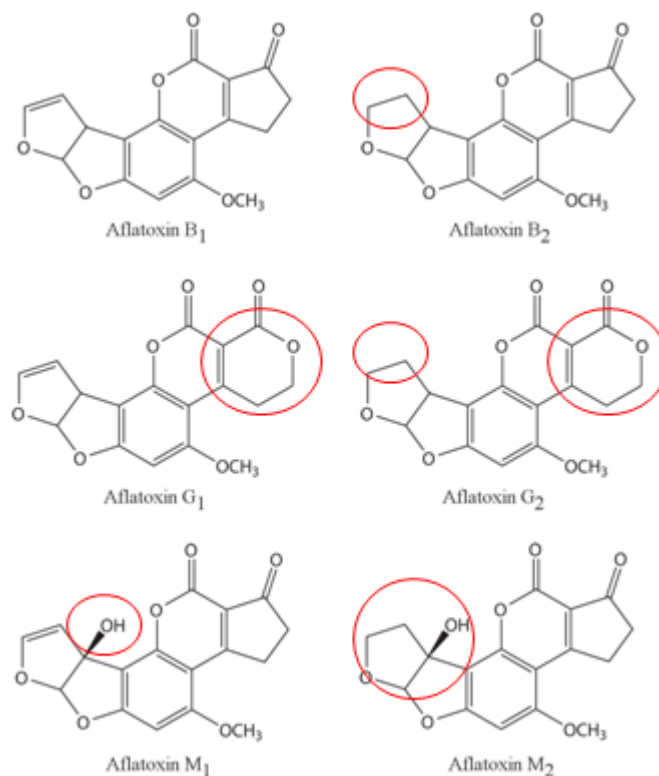
2.4.2. Aflatoxin-B₁

Az aflatoxinok (AF) az egyik legtöbbet kutatott mikotoxin csoport, melyet több *Aspergillus* gombafaj termel másodlagos anyagcseretermékeként. Az aflatoxinok kutatottságának oka elsődlegesen a pulyka „X” kór vizsgálata volt, aminek következtében az 1960-as években tömegesen pusztultak el Angliában a baromfiak. Később igazolták, hogy az aflatoxin felelős a megbetegedésért. Vékonyréteg kromatográfias módszerrel 4 különböző típust különítettek el. Ibolyán túli (UV) fényben mutatott fluoreszcencia alapján a jelölt színtartományoknak megfelelően elsőként B₁, B₂ (kék, blue) és G₁, G₂ (zöld, green) változatokat detektáltak (D'MELLO és MacDONALD, 1997). Az *Aspergillus flavus* faj termeli az aflatoxin-B₁ (AFB₁) illetve az aflatoxin-B₂ (AFB₂) mikotoxinokat (2.4. ábra). Az *Aspergillus parasiticus* szintén termel AFB₁-et és AFB₂-t, továbbá aflatoxin-G₁-et (AFG₁), valamint az aflatoxin-G₂ (AFG₂) termelése is jelentős (D'MELLO et al., 1998). Az említetteken felül jelenleg az aflatoxinoknak csaknem 20 származéka ismert. Az egyes AF származékok toxicitása jelentősen eltérhet egymástól.

Az AFB₁ környezetegészségügyi hatását tekintve karcinogén, mutagén, teratogén, immunmoduláns, citotoxikus, de elsősorban hepatotoxikus (GOLLI-BENNOUR et al., 2010). Az AFB₁ a legtoxikusabb mind akut, mind krónikus megbetegedéseket tekintve. Azonban a tejben megtalálható AFM₁ metabolit közel azonos hepatotoxikus hatású, mint az AFB₁, de kevésbé karcinogén (CARNAGHAN et al., 1963).

Az AFB₁ mikrobiális lebontásáról már számos vizsgálat létezik. Egy *Rhizopus* törzs, a *Dactylium dendroides* (mai nevén *Hypomyces rosellus*), és a *Corynebacterium rubrum* fajok az aflatoxint aflatoxikollá alakítják, mely vegyület kevésbé bizonyult toxikusnak az állatkísérletekben (MANN és REHM, 1976). Az aktinomicéta baktérium, *Flavobacterium aurantiacum* (mai nevén *Nocardia corynebacterioides*) képes enzimatikusan bontani az AFB₁ toxint (SMILEY és DRAUGHON, 2000). A *Mycobacterium fluoranthivivans* talajbaktériumot egy korábbi földgáz telepen izolálták, és képes volt a poliaromás szénhidrogén fluorantént szénforrásként használni, és hatékonyan bontani az AFB₁ toxint (HORMISH et al.,

2004). Egy Gram-pozitív baktérium, a *Rhodococcus erythropolis* törzs extracelluláris enzimjei nem csak a policiklikus aromás szénhidrogéneket képesek bontani, hanem az aflatoxint olyan termékekre bontják, amelyek kevésbé toxikusak, és elvesztik a fluoreszcens tulajdonságukat a lakton gyűrű lebontása következtében (TENIOLA et al., 2005). Az AFB1 bontását a szintén aktinomicéta *Mycobacterium smegmatis*-nál is leírták (TAYLOR et al., 2010). Legújabbban a *Bacillales* rendbe tartozó *Bacillus subtilis*-nél publikáltak az AFB1 bontást (XIA et al., 2016). Az általam vizsgált baktériumcsoport tagjai közül a *Streptomyces heliomycini*, *St. lividans* és *St. aurofaciens* fajok egyes törzsei hatékonyan képesek lebontani a toxin molekuláit a toxikus, esetenként a biológiai hatás megszüntetésével (KRIFATON et al., 2011; ESHELLI et al., 2015).



2.4. ábra. Az aflatoxin típusai és szerkezeti felépítésük. A piros karikák a különbségeket jelzik (http2).

2.4.3. A mikotoxinok hatástalanításának módszerei

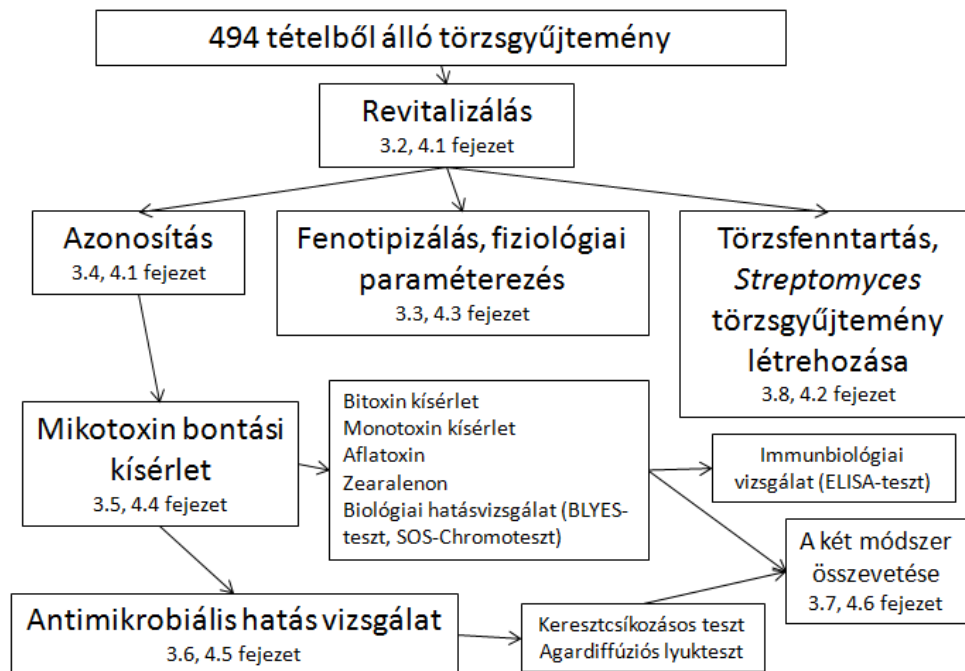
A mikotoxinokat eltérő módszerekkel lehet hatástalanítani (EFSA, 2009). Az egyik lehetséges módszer az adszorbensek alkalmazása, amelyek olyan nagy molekulású anyagok, melyek felületén megkötődnek a mikotoxinok, így csökkentik azok biológiai hozzáférhetőségét (VEKIRU et al., 2015). Lehetnek szilikon alapú szervetlen vagy szén-alapú szerves polimerek, tejsav baktériumok, vagy akár élesztő sejtfallal rendelkezők is (SHETTY és JESPERSEN, 2006; VERHEECKE et al., 2016). Ez a folyamat anélkül játszódik le, hogy az állat bélrendszerét

károsítaná, és az adszorbens az ürülékkel feltételezhetően távozik. Egyes forgalomban lévő takarmányadalékok úgy képesek csökkenteni a takarmányok gomba eredetű méreganyag szennyezettségét, hogy a felszívódásukat gátolják, működésüket megváltoztatják, valamint kiválasztásukat segítik (EFSA, 2009). Kémiai és fizikai kezeléseket is alkalmaztak az élelmiszerek és takarmányok ZEA tartalmának csökkentésére, azonban ezek az eljárások nem bizonyultak elég hatékonynak (SCOTT, 1991). További lehetséges védekezési módszer az aflatoxinok termelésének megakadályozása antagonistá *Aspergillus* fajok alkalmazásával. Az eljárás lényege, hogy a természetben előforduló, toxintermelő gombát egy toxint nem termelő *Aspergillus* faj segítségével kiszorítják a fertőzött területről (HRUSKA et al., 2014).

Biotranszformáló módszerekkel degradálják, vagy átalakítják a mikotoxinokat egy nem, vagy kevésbé toxikus termékre. Ebben a folyamatban kizárólag baktériumok vagy gombák vesznek részt (KRIFATON, 2012). A mikotoxinokat detoxifikáló illetve degradáló ágensek gyakorlati felhasználása a gazdasági állatoknál indirekt módon a humán egészségvédelem egyik eszköze is lehet, ugyanis az ily módon mentesített állati termékek az emberi szervezetbe jutva már nem okoznak semmilyen káros hatást (EFSA, 2009).

3. ANYAG ÉS MÓDSZEREK

Kísérleteim első lépéseként a Szent István Egyetem, Környezetbiztosági és Környezettoxikológiai Tanszékén lévő, 494 tételből álló törzsgyűjtemény tagjait revitalizáltam, majd indentifikáltam és fenotípusos vizsgálatot végeztem velük. Célkitűzéseimnek megfelelően a meghatározott törzseket AFB1 és ZEA mikotoxin bontásra szkríneltem (nagy elemszámú szűrés), illetve elemeztem toxin biodetoxifikációs képességüket, és végül meghatároztam antimikrobiális hatásukat (3.1. ábra).



3.1. ábra. Folyamatábra a munkám során elvégzett kísérletek menetéről és az alkalmazott módszerekről. (Az egyes lépések alatt lévő fejezetszámok a dolgozatom „3. Anyag és módszer” valamint „4. Eredmények és értékelésük” főfejezeteinek alfejezeteire utalnak a kísérleti rendszer könnyebb követhetősége érdekében.)

3.1. A törzsgyűjtemény eredete

A tanszéki nomenklaturában ”K”-ként jelzett mikrobiológiai törzsgyűjtemény tagjait talajokból, bomló növényi maradványokról, tőzeglápokból és komposzt mintákból izolálták, döntő mértékben a 70-es években. A gyűjtemény tagjairól csak annyi információval rendelkeztem, hogy tagjai azonosítatlan sugárgombák, amelyeket *Streptomyces* szelektív táptalajokról izoláltak. A kb. 40 éves minták egyetlen liofilizált példányban álltak rendelkezésre, legtöbb esetben csak kódszámokkal jelölve.

3.2. Revitalizálás

A törzsgyűjtemény tagjait munkám előtt liofilizált ampullákban, fénytől védve, szobahőmérsékleten, dobozokban tárolták. A revitalizálás első lépéseként az ampullák felületét gyémántfejú vágó szerszámmal karcoltam meg, majd hirtelen hőközlés (nyílt láng) és lehűtés után feltörtem. Az ampullákba 5%-os 200-200 µl peptonos vizet (5g kazein pepton 1000 mL desztillált vízre-re vonatkoztatva) mértem. Az ampullák feltörése stresszhatásként éri a sejteket, és mivel minden törzsből csak egy ampulla állt rendelkezésre, a túlélés hatékonyabb biztosítása érdekében a törzseket kétféle módszerrel, agaros szilárd táptalajra szélesztéssel és folyékony elősejtes rázatással revitalizáltam.

A szilárd tápagaros szélesztés során az ampullák tartalmából automata pipettával kimértem 50 µl-t, majd üvegbottal szélesztettem Petri-csészébe előre kiöntött és megszilárdult steril GYM agarra (3.1. táblázat). A GYM agartípus *Streptomyces* törzsek felszaporításához ideális (a Német Nemzeti Mikroorganizmusok és Sejtkultúrák Gyűjteményének /DSMZ/ ajánlása szerint), mert kellő mennyiségű glükózt tartalmaz, illetve a benne lévő maláta a spóráképzést segíti elő, valamint a táptalajban előírt CaCO₃ pedig pH pufferként viselkedik (3.1. táblázat). A Petri-csészéket megfordított helyzetben (a víz kondenzálódása miatt) 120 óráig 24, 28 és 45°C-on inkubáltam Memmert típusú fűthető termosztátban.

Ahogy fent említettem, a szélesztéssel párhuzamosan folyékony rázatást is végeztem. Ennek során 300 ml-es Erlenmeyer-lombikba 100 ml folyékony GYM folyékony táplevest (3.1. táblázat) készítettem elő, majd ebbe is mértem 50 µl-t az ampulla tartalmából. A lombikokat rázó termosztátban 24, 28 és 45°C-on 170 rpm-en rázattam, amíg a lombikban levő folyékony tápoldatban szemmel látható, összetekeredett micélium göböket nem észleltem (legtöbb esetben 120 órán át folyt a rázatás). A felszaporítás fázisa után tisztító szélesztést végeztem, szintén GYM tápagaron.

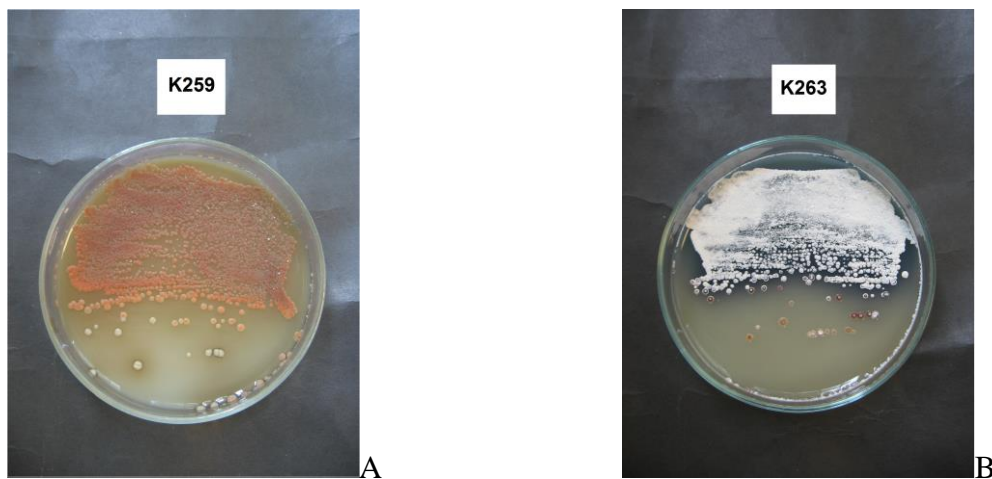
3.1. táblázat. A liofilizált baktériumampullák revitalizálásához használt táptalajok összetétele 1000 ml desztillált vízre vonatkozóan.

	GYM agar	GYM folyékony
Glükóz	4,0 g	4,0 g
Élesztőkivonat	4,0 g	4,0 g
Maláta kivonat	10,0 g	10,0 g
CaCO ₃	2,0 g	-
pH	7,2	7,2
Agar	12,0 g	-

3.3. Makroszkopikus (fenotípusos) vizsgálat és hőmérsékleti optimum meghatározás

Fenotipizálás során a telepek színét, felületi morfológiáját, elrendezését; a pigment termelés jelenlétét; a pigment színét; és a spóratermelés meglétét (légmicélium kialakulása) vizsgáltam. A tartósítás és a tovább szaporítás szempontjából fontos ismerni, hogy a törzsek milyen körülmények között képesek spórát termelni. A spóratermelés jelenlétét 96-120 órás inkubációt követően a telep felső felszínének szürkés-fehéres színváltozásával („lisztes spóraszőnyeg”) detektáltam. Az inkubációs idő (96-120 óra) elteltével elvégeztem a törzsek fenotipizálását, makroszkopikus leírását. Az egyes törzsekről fotódokumentáció készült (3.1. kép).

A szaporodás mértékének megállapítására (120 óra eltelte után) saját értékelő rendszert vezettem be: növekedésnek indult állapot (telep megjelenése az agarfelületén, jele: +), jó növekedési eréllyel bíró (a Petri-csésze egyharmadát betöltő telepfejlődés, jele: ++), kiváló növekedési eréllyel bíró állapot (a Petri-csésze kétharmadát betöltő telepfejlődés, jele: +++), gyenge növekedést mutató (kezdeti telepnövekedés, jele: +/-), illetve növekedést nem mutató állapot (gyakorlatilag az agar felülete üres, jele: -). A gyűjtemény tagjainak különböző hőmérsékleteken történő növekedését, mint jellemző tulajdonságot vizsgáltam. A mikroba törzsek hőmérsékleti optimumának meghatározásához rázatott tenyészetben szintén GYM táptalajon és szilárd lemezen inkubáltam a tenyészeteket 24, 28, illetve 45 °C-on. A szaporodás mértékét (OD) fotométeren, 600 nm-nél követtem. A hőmérsékleti optimum meghatározása azért is lényeges, mert a 37°C felett növekedni képes baktériumok humán egészségügyi szempontból is kockázatosak lehetnek.



3.1. kép. A törzsgyűjtemény két revitalizált tagjának fényképe.

A *Streptomyces galilaeus* K259 törzs pigmentált, korall színű telepe (A), illetve a *Streptomyces violaceolatus* K263 spórával borított telepe (B). Mindkét esetben az agarlemez mátrixában barna színű pigment észlelhető. (A szerző saját felvételei.)

3.4. Mikroba törzsek molekuláris biológiai azonosítása

A molekuláris biológiai módszerek fejlődésével, a fajok jellemzően ilyen alapú elkülönítése miatt, napjainkra a kizárólag fenotipizáláson (morfológia, tenyésztési paraméterek, biokémiai tesztek) alapuló törzsazonosítási eljárások önmagukban félrevezető vagy pontatlan eredményt adhatnak. Ezért a molekuláris taxonómiai vizsgálatok elengedhetetlenek. Az említett törzsgyűjtemény revitalizált tagjait molekuláris taxonómiai módszerrel is elemeztem (16S rDNS szekvencia analízis). Ennek lépéseit az alábbiakban mutatom be.

3.4.1. A törzsek faji szintű azonosítása 16S rDNS alapján

A prokarióta mikroba fajok meghatározásához szükséges vizsgálati módszerek a kilencvenes évek végétől meghatározott új metodika szerint zajlanak (BUSSE et al., 1996). Ennek során a faji szintű identifikációhoz prokarióták esetében általában a riboszómák felépítését és elsődlegesen azok molekuláris biológiai tulajdonságait határozzák meg. Baktérium izolátumok molekuláris taxonómiai azonosítására általában azok 16S rDNS szekvenciáinak meghatározását és analízisét végzik el. A módszer alapja a 16S riboszómális DNS szekvenciaelemzése.

A riboszómák a citoszolból centrifugálással könnyen elkülöníthetők, ugyanis meghatározott ülepedési sebességgel (szedimentációs koefficiens) rendelkeznek, melynek mértékegysége a Svedberg egység (S). A prokarióta szervezetek 70S szedimentációs koefficiensű riboszómái egy 30S és 50S alegységre disszociálnak (TINDALL et al., 2010). A 30S alegység 21 különböző fehérjét és egy 16S riboszómális RNS-t (rRNS) tartalmaz. Az rRNS-ek kevésbé változékonyak és könnyen izolálhatók, ahogy az őket kódoló rDNS szakaszok is. A prokarióták esetében a 16S rDNS körülbelül 1500 bázispár hosszúságú. Ez az 1500 bázispár ún. szemi-konzervatív elemeket tartalmaz, ugyanis a bázispárok első 27, illetve az utolsó 21 nukleotidpárt tartalmazó szakasza a baktériumokban megegyező, vagyis konzervált. Hasonló konzervált terület található a 16S rDNS 519-es régiójában. A molekuláris biológiai alapon végzett taxonómiai vizsgálatok az ilyen konzervált szakaszok között található variábilis szakaszok összehasonlítása által becsülik az egyes fajok genetikai rokoni kapcsolatát, valamint ezek alapján történik a rokonsági törzsfák megalkotása is (SZABÓ, 1998). A módszer segítségével az izolátumok nagy valószínűséggel faj szinten azonosíthatóak. A 16S rDNS alapú, faji szintű identifikáció lépéseit az alábbiakban részletezem.

3.4.2. DNS izolálás

A meghatározni kívánt gyűjteményi baktérium törzsből tiszta tenyészetet hoztam létre steril Falcon csőben (15 ml). A rázatásból származó biomasszát ultrahangos szonikáló berendezés (Branson 250 Sonifier) segítségével roncsoltam. Ez az eljárás segít az ellenálló sejtfal

felszakításában, mielőtt a DNS kinyerés megtörténne. Az izolálást MoBIO Ultra Clean™ Soil DNA Isolation Kit-tel végeztem (MoBIO Laboratories Inc., USA) a gyártó által megadott protokoll szerint. A baktérium törzs tenyészetéből bemeztem 1,8 ml-t, és 30 másodpercen keresztül centrifugáltam 10.000 g-n 24°C-on, majd a felülúszót eltávolítottam. A pelletet 300 µl MicroBead oldattal felhígítottam, majd szilícium kristályokat tartalmazó MicroBead csőbe pipettáztam. Rázatas után az oldathoz adtam 50 µl MD1 oldatot. A csöveket MO BIO Vortex Adapterben (MoBIO Laboratories Inc., USA) rázattam 10 percen keresztül vízszintes elrendezésben, majd 30 másodpercig 10.000 g-n centrifugáltam. A felülúszót átmértem egy Eppendorf-csőbe, amihez 100 µl MD2 oldatot adtam. Az így kapott oldatot rázatas után 5 percig 4°C-on állni hagytam. Újabb centrifugálás után a felülúszót egy Eppendorf-csőbe mértem, és 900 µl MD3 oldatot adtam hozzá, amit ismét rázatas követett. A felülúszót egy szűrőbetét (spin filter) segítségével leszűrtem 10.000 g-n 30 másodperc alatt. A szilika membránon maradt szűrlethez 300 µl MD4 oldatot mértem. Az így kapott oldatot egyperces 24°C-os hőmérsékleten történő inkubálás után újra lecentrifugáltam. Ez a folyamat a filter membránhoz kötődött szennyeződésektől mentesíti a DNS-t. A szűrőbetétet újabb Eppendorf-csőre helyeztem, és az MD5 oldatból 50 µl-t pipettáztam a membrán közepére. Centrifugálást követően a szűrőbetétet eltávolítottam, és a már csak kizárólag DNS-t tartalmazó Eppendorf-csövet felhasználásig -20°C-os hűtőben tároltam.

3.4.3. DNS detektálása agarózgél-elektroforézissel, koncentráció meghatározás

A fenti kit segítségével izolált genomi DNS detektálásához 1%-os agaróz gél-t öntöttem, amelyet 6 µl mennyiségű 1%-os etídium-bromid festékekkel egészítettem ki (3.2. táblázat). Az etídium-bromid festék beépül a DNS-száiba és UV fény alatt fluoreszkál. Az agaróz gél pórusos szerkezetéből fakadóan az elektroforézis során szűrőhatást gyakorol a nukleinsav molekulákra. A DNS fragmentek pH 7-es értéken negatív töltéssel rendelkeznek és a géltre kapcsolt egyenáram hatására a pozitív pólus felé kezdenek vándorolni, a nagyobb molekulák gyorsabban, míg a kicsik lassabban (a sebesség fordítottan arányos a DNS molekulásúly tízes alapú logaritmusával). A nukleinsav molekulák méretére egy ismert molekulásúlyú referencia minta segítségével következtethetünk.

3.2. táblázat. Az agarózgél-elektroforézis esetében a DNS detektáláshoz alkalmazott gél összetétele.

agaróz	1 g
10xTBE (TRIS-bázis 10,78 g/l; bórsav 5,5 g/l; EDTA 0,74 g/l; pH 8,3)	10 ml
MilliQ H ₂ O	90 ml
etídium-bromid (koncentrátumként) 10 mg/L	6 µl

Vizsgálataim során a megszilárdult gélből eltávolított műanyag fésű helyén hátra maradt zsebekbe 5 µl DNS-mintát és 3 µl töltőpuffert (30 v/v % glicerin, 0,25 mM brómfenolkék) töltöttem, illetve az első zsebbe 3 µl ismert molekulásúlyú markert (Fermentas, GeneRuler™ DNA Ladder, Izrael), ún. létrát pipettáztam. A gélt 1xTBE pufferben 100 V-on 30 percig futtattam, majd UV fényben vizsgáltam. A molekuláris biológiai vizsgálatoknál fontos a DNS minta tisztaságának megállapítása. Nano Photometer™ (Implen UK Ltd, Egyesült Királyság) segítségével lemértem a minták koncentrációját 260 és 280 nm-en. Az előbbi a DNS molekula-, az utóbbi az esetleges szennyeződések koncentrációjára utal. A kettő arányából lehet következtetni az izolált genomi DNS tisztaságára, valamint arra, hogy szükséges-e adott esetben higítani a templátot. Így egyforma és megfelelő mennyiségű templátot tudok felhasználni a különböző törzsek PCR-e során. Az általam használt optimális koncentráció 20-25 ng/µl volt.

3.4.4. Polimeráz láncreakció

A polimeráz láncreakció (polimerase chain reaction, PCR) eljárás lehetőséget ad arra, hogy az izolált DNS vizsgálni kívánt 16S riboszomális szakaszának mennyiségét kimutatható szintre növeljük. Polimeráz láncreakció során a primerek segítségével kijelölt DNS-szakaszokat nagy számban felszaporítjuk (amplifikáljuk).

A PCR reakcióelegy összetevői az alábbiak:

DNS Templát: az a DNS, amelynek választott részéről nagyszámú másolatot akarunk készíteni.

Primerek: szintetikusan előállított rövid DNS szálak, az amplifikálandó szakasz két végét határozzák meg.

dNTP-k: (dezoxi-nukleotid-trifoszfát: dATP, dCTP, dGTP, dTTP) a polimeráz enzim ezekből építi fel az új DNS-szálakat.

Taq-polimeráz: hőstabil, a DNS szakasz másolását végző enzim

Taq-puffer: biztosítja a polimeráz számára a megfelelő kémiai közeget

MgCl₂: a primer-dimerek keletkezését befolyásolja, segíti a primerek kapcsolódását, hozzájárul a másolás pontosságához, valamint a Taq-polimeráz enzim aktivitásához

Víz: (MQ H₂O, ultratiszta víz) a reakcióelegy végtérfogatának beállításához szükséges

Tween 20: a nem vízzoldékony anyagok diszpergálását segíti elő

A reakcióhoz az univerzális 16S rDNS primerpárt használtam: 27 forward (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') és 1492 reverse (5'-TACGGTTACCTTGTACGACTT-3') (LANE, 1991). Steril csövekbe mintánként 5µl 10x Taq-puffert (Fermentas, Litvánia), 3 µl (2mM) MgCl₂-ot (Fermentas, Litvánia), a fent bemutatott két primert 0,5 µmol-0,5 µmol (Integrated DNA Technologies, USA) mennyiségben, 1 U (0,2 µl) Taq DNS polimerázt

(Fermentas, Litvánia), 10 µl dNTP-t (Fermentas, Litvánia), 0,5-3 µl DNS templátot (izolált genomi DNS) és annyi desztillált vizet (MilliQ) pipettáztam, hogy a végső térfogat 50 µl legyen (mintánként értendő). A kiválasztott 16S rDNS-szakaszok néhány óra alatt láncreakció-szerűen milliós példányszámban termeltethetők, mivel egy ciklus alatt, amennyiben minden körülmény megfelelő, a primerek által kijelölt szakaszok példányszáma megkettőződik, ami 30 cikluson keresztül ismétlődik. A PCR-t automatizált termocikler (Applied Biosystems® PCR, USA) berendezés segítségével végeztem. A hőprofil a következő volt:

▪	98°C	5 perc	Kezdeti denaturáció	
▪	96°C	30 mp	Primer annealáció	} 30 ciklus
▪	54°C	30 mp	Extenzió	
▪	72°C	1 perc	Denaturáció	}
▪	72°C	10 perc	Végső extenzió	
▪	4°C	∞	Hűtés	

3.4.4.1. Agaróz gélelektroforézis az amplifikált PCR termék kimutatásához

A PCR sikerességét, a koncentráció és tisztaság ellenőrzését, a megfelelő méretű fragmentek jelenlétét ismét (a DNS detektálásnál említett) agaróz gélelektroforézis segítségével vizsgáltam. A módszerrel már igen kis (1-5 ng) mennyiségű DNS is kimutatható. A gélhez ebben az esetben is magas hőmérsékleten [forrásponthoz közeli állapot, mikrohullámú sütőben (450-600 W)] 0,7 g nagy tisztaságú agarózt oldottam fel 70 ml oldószerben (TBE puffer), majd kézmelegre hűtve az oldatba 6 µl 1%-os etidium bromid festéket pipettáztam, végül az egészet egy fésűsorokat tartalmazó futtatókádba öntöttem. A szélső zsebbe ismert és meghatározott bázissorrendű standard létrát pipettáztam. A mintákat 110V feszültségen 30 percig futtattam, majd ez esetben is UV fény alatt a standardhoz viszonyítva ellenőriztem, hogy a mintákban megtalálhatóak voltak-e az általam várt bázishosszúságú szakaszok.

3.4.4.2. PCR termék tisztítása

Amennyiben a PCR értékelhetővé vált, akkor a keletkezett termékeket Viogene® PCR-M Clean Up System szettel tisztítottam a leírt protokoll szerint. Az elektroforézis után megmaradt terméket egy 1,5 ml-es Eppendorf csőbe pipettáztam, és megadott tisztítófolyadék hozzáadása után kémcsőkeverővel (vortex) alaposan összekevertem. Az így keletkezett oldatot egy speciális szilika-membrán réteggel ellátott oszlopra mértem. A membránhoz kaotrópikus sók jelenlétében a 100-10.000 bázispár méretű DNS fragmentek kötődnek, azonban a számunkra szükségtelen alkotók (pl.: primer dimerek, maradék dNTP) 1-2 perces centrifugálás hatására áthaladnak rajta.

Az oszlop átmosását a protokoll szerint még másik két mosófolyadékkal is elvégeztem. A folyamat végén a csöveket még egyszer 3 percig centrifugáltam 12.300 g fordulatszámon, így

eltávolítva a maradék puffert. Az oszlopokat egy tiszta Eppendorf csőbe helyeztem át, és membránjuk közepére 30 µl eluáló puffert mértem, majd 10 perces szobahőmérsékleten történő inkubáció után ismét 12.300 g-n lecentrifugáltam. Így a cső alján már csak a tisztított PCR termék volt. A tisztítás eredményét a fent ismertetett módon agaróz gélelektroforézissel ismét ellenőriztem.

3.4.4.3. Szekvenáló reakció és a fragmentek báziselemzése

Az általam használt szekvenálás elve az úgynevezett dideoxi-, vagy Sanger-féle láncterminációs módszer volt. A reakcióelegyben fluoreszcens festékkel jelölt módosított dideoxi-nukleotidok vannak. Ezeknél a nukleotidoknál a ribóz 3' helyéről is hiányzik az OH csoport. Ezeket a dideoxi, vagy A/T/G/C stop-nukleotidokat a polimeráz enzim nem különbözteti meg a normál bázisoktól és azokat is beépíti a komplementer szálba. A hiányzó kapcsolódási pont - 3'-OH csoport – miatt azonban ezen a ponton a komplementer lánc szintézise megszakad. A reakció eredményeképpen a templát DNS különböző hosszúságú fragmentjei jönnek létre, végükön a módosított fluoreszcens nukleotidokkal, így a nukleotidok sorrendje leolvashatóvá válik a detektált színek sorrendje alapján.

A szekvenancia analízishez első lépésként steril PCR csövekbe a következőket mértem: 1 µl BigDye Terminator V3.1, 1,5 µl BigDye puffer, 0,5 µl primer (27F, 338F, 803F; külön reakcióelegybe töltve), 3,5 µl dH₂O, 5 µl tisztított DNS, (végtérfogat 10 µl). A csöveket Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems, USA) PCR készülékbe helyeztem be.

A három szakaszból álló ciklus az előzőhöz hasonlóan 30-szor ismétlődik, majd a gép 4 °C-ra hűti a mintákat, melyet vagy azonnal felhasználtam, vagy -20 °C-on tároltam. A kapott végtermék megközelítőleg 500 bázispár hosszúságú. A kettő (esetenként három) primer (27F, 338F, és esetenként 803F) majdnem a teljes 16S rDNS szakaszt (~1500 bp) lefedi, azonban részleges szekvenancia analízissel (~600-700 bp) is viszonylag nagy biztonsággal meghatározható a legtöbb baktériumfaj az elemzés végzésekor aktuális (2009-2010) taxonómiai besoroláson alapuló adatbázisok alapján.

A hőprofil a következő volt:

96 ⁰ C	1 perc	} 30 ciklus
94 ⁰ C	10 mp	
54 ⁰ C	15 mp	
72 ⁰ C	4 perc	
4 ⁰ C	∞	

3.4.4.4. *A szekvenáló termék tisztítása etanol-precipitációval*

A tisztítás első lépéseként a szekvenáló termékhez hozzámértem 3 µl 3 mólos Na-acetát oldatot (pH 4,6); 62,5 µl 96 %-os etanolt; 14,5 µl dH₂O-t. A reakcióelegyet kémcsőkeverővel összekevertem, majd 10 percig inkubáltam szobahőmérsékleten. A mintákat centrifugáltam (2.500 g; 20 perc; 4°C), majd a felülúszót óvatosan eltávolítottam. A pelletre 180 µl 70%-os etanolt mértem, ezután kémcsőkeverővel összekevertem. Ismét centrifugáltam (2.500 g; 20 perc; 4 °C) a mintát, majd a felülúszót ismét óvatosan lepipettáztam. Végül a szekvenáló terméket tartalmazó csöveket szájukkal lefelé helyezve a centrifugába 1 perc alatt 620 g-vel kiszárítottam. A minták mindegyikéhez külön-külön 20 µl Hi-Di formamidot pipettáztam, majd a csövek mindegyikét 4°C-on, 12 órán keresztül inkubáltam.

A mintákat ezután kapilláris-elektroforézisnek vettem alá az ABI Prism 310 genetikai analizátor (Applied Biosystems, USA) készülék segítségével. A szekvenáló reakció során létrejött különböző hosszúságú fragmentek végén helyet foglaló módosított nukleotidok fluoreszcenciáját a genetikai analizátor a kapillárisban áramoltatva egy „ablakon” keresztül detektálja. A kapott szín alapján megtudhatjuk, hogy az adott helyen milyen bázis áll és ezen eredményeket összeillesztve megkapjuk az amplifikált szekvenáló termékünk nukleotid sorrendjét.

3.4.4.5. *A szekvenciák kiértékelése a nukleotid sorrend alapján*

A kapott szekvenciákat a MEGA5 program segítségével dolgoztam fel (TAMURA et al., 2011) és a GenBank adatbázis (BLAST algoritmus), illetve a LeBIBI-Bio Informatic Bacteria Identification (FLANDROIS et al., 2014), valamint az EzTaxon ([http:// www.ezbiocloud.net](http://www.ezbiocloud.net)) segítségével azonosítottam. Kutatásom első éveiben a LeBIBI-t használtam, amely a későbbiekben nem működött megfelelően, így áttértem 2012-ben az EzTaxon használatára. Minimum 98%-os egyezőségi értéket fogadtam el faji szintű egyezésnek.

3.5. A faj szinten azonosított törzsek toxinbontó képességének tesztelése

3.5.1. A törzsek előkészítése

A revitalizálás után a gyűjteményben lévő *Streptomyces* törzseket újból felszaporítottam, majd 72 órán keresztül tenyésztettem szilárd LB agaron $28 \pm 2^\circ\text{C}$ -on (3.3. táblázat). Ezután minden egyes törzssel 30 ml LB tápoldatot oltottam be, majd 72 óráig $28 \pm 2^\circ\text{C}$ -on, 170 rpm fordulaton rázattam. A sejtsűrűséget 600 nm hullámhosszon $\text{OD}_{600} = 0.6$ optikai sűrűsége állítottam be IMPLEN SpectroPhotometerrel (Thermo Fischer Scientific, GENESIS 10S, USA).

3.3. táblázat. A *Streptomyces* törzsek toxinbontási vizsgálatának előkészítéséhez használt táptalajok összetétele 1000 mL-re vonatkozóan.

	Luria-Bertani (LB) agar	Luria-Bertani (LB) folyékony
Tripton	10,0 g	10,0 g
Élesztő kivonat	5,0 g	5,0 g
NaCl	10,0 g	10,0 g
pH	7,0	7,0
Agar	12,0 g	-

3.5.2. Bitoxinkísérlet, előkísérlet

A bitoxin kísérlet egy előszelekciós vizsgálat volt, melyben AFB1 és ZEA mikotoxinok 1-1 µg/ml koncentrációjú bontására vizsgáltam az előzetesen kiválasztott, faji szinten azonosított (molekuláris taxonómiai vizsgálatok alapján) törzseket (124 db). A kísérletekhez az AFB1 és ZEA toxint (FERMENTEC Ltd., Izrael) acetonban oldottam: a törzsoldat készítéséhez mindkét mikotoxin 1-1 mg-nyi, 99,5%-os tisztaságú, száraz formáját oldottam fel 1 ml-nyi 98,8%-os acetonban (Sigma-Aldrich, USA). Aztán 0,05 ml toxin törzsoldatot és 4,95 ml inokulumot 45 ml-nyi LB tápoldathoz adtam (300 ml-es Erlenmeyer-lombikban), így a végső térfogat 50 ml lett, vagyis a toxinok végső koncentrációját 1-1 µg/ml-re (ppm) állítottam be. Kontrollnak 0,05 ml AFB1 illetve ZEA (1 µg/ml) törzsoldatot adtam 50 ml LB tápoldathoz. Az így készült oldatokat 120 óráig rázattam $28 \pm 2^\circ\text{C}$ -on, 170 rpm-en. Ezután 1 ml mintát vettem az oldatokból és 20 percig centrifugáltam 4°C -on 12500 g-n. A felülúszót és a pelletet külön tároltam -20 , illetve -80°C -on. Az AFB1 által okozott genotoxicitás esetleges csökkenését, illetve meglétét SOS-Chromotesttel, a ZEA által okozott hormonhatás esetleges lecsökkenését pedig BLYES-tesztel ellenőriztem. A bitoxin kísérletben a baktériumtörzseket nem tartalmazó (negatív) kontrollból három ismétlést alkalmaztam.

3.5.2.1. A toxinok biológiai hatásának tesztelése biotesztekkel

A degradációs kísérletekben a toxin mennyiségének csökkenése mellett annak kimutatása is fontos, hogy a bontást követően megszűnt-e toxikus, vagy hormonszerű hatásuk (biodetoxifikáció). A bontást követően ugyanis, ahogyan azt az Irodalmi áttekintésben említettem, keletkezhetnek olyan másodlagos anyagcseretermékek, melyek szerkezete eltér az eredeti toxintól, így azok az anyagspecifikus analitikai mérésekkel már nem mutathatók ki, a keletkező metabolitoknak azonban megmaradhat, sőt erősödhet a toxikus hatása. A biológiai tesztek segítségével el lehet dönteni, hogy a bontást követően megmaradt-e a rájuk jellemző toxikus hatás. A biotesztek ugyanis nem a molekulára, hanem azok biológiai hatásaira (pl.

ösztrogén hatás) specifikusak. Napjainkban számos ilyen, esetenként szabványosított, módszer áll rendelkezésünkre, melyek segítségével a toxinok jelenléte mellett azok biológiai hatását is képesek párhuzamosan kimutatni. A vizsgálati módszerekre jellemző, hogy minél bonyolultabb a módszer, annál nagyobb a környezeti realizmusa, de ezzel együtt egyre inkább nő a hely- és időigénye, valamint általában a költsége is. A biológiai teszrendszer hátránya, hogy sokszor a laborban kapott eredmények nem vonatkoztathatók ténylegesen a környezetben lejátszódó folyamatokra, mivel modellezésük és ennek köszönhetően reprodukálhatóságuk nem egyszerű és alkalmazásuk csak az analitikai módszerekkel együttesen vezetnek célhoz (CALOW, 1993).

Az SOS-Chromoteszt alkalmazása AFB1 biológiai (genotoxikus) hatásának mérésére

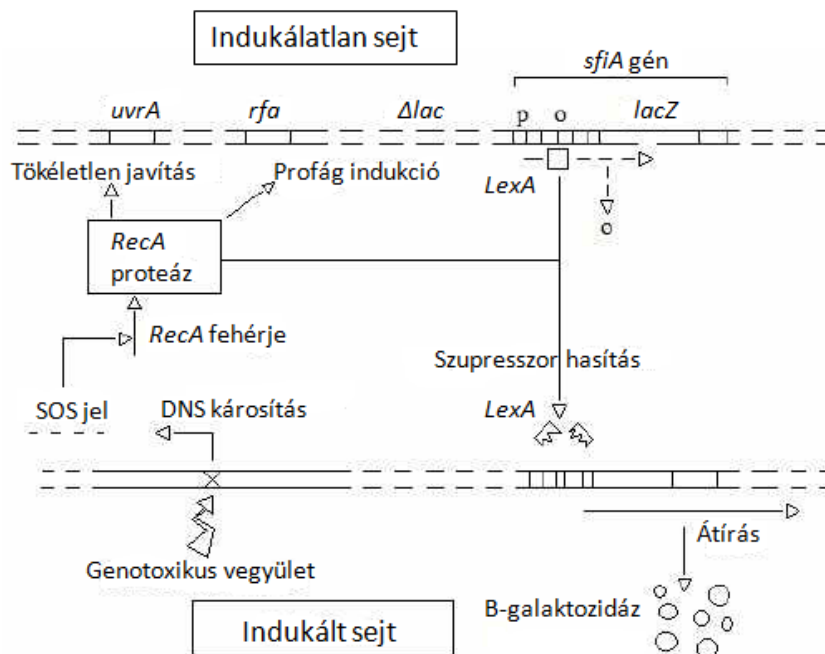
Az SOS-Chromoteszt egy kolorimetriás mérés, melyben az *Escherichia coli* PQ37-es mutáns törzsét használjuk fel genotoxikus molekulák, mint amilyen az AFB1, kimutatására (3.2. ábra). A genotoxikus molekulák egy SOS repair rendszert aktiválnak az *E. coli* baktériumban. Normál állapotban egy gátló fehérje, a *LexA* megakadályozza az *sfiA* gén átíródását, mely az SOS repair rendszert kódolja. Ha a sejt azonban valamilyen genotoxikus anyaggal kerül kapcsolatba, a *RexA* rekombináns fehérje hasítja a *LexA* gátló fehérjét, ezzel megtörténik az *sfiA* gén átíródása, mely elindítja az SOS mechanizmust. A PQ37-es mutánsban a *sfiA* gén irányítása alá helyezték a β -galaktozidáz termelését kódoló *lacZ* gént, tehát a β -galaktozidáz termelődése csak az *sfiA* génexpressziója után történhet meg. A sejt DNS javítása közben az *sfiA:lacZ* operont a genotoxicitás nagyságának megfelelően többször átírja. Az átírások száma egyenesen arányos a *lacZ* által kódolt β -galaktozidáz enzim mennyiségével (MERSCH-SUNDERMANN et al., 1991).

A tesztszervezet további két mutáns génnel is rendelkezik. A vad típusú *uvrA* excíziós-repair gén lehetővé tenné a DNS károsodás gyors megszüntetését, amivel az SOS-válasz elmaradna. Ennek a génnek a mutációjával a tesztszervezet érzékenyebbé vált a DNS hibák SOS-rendszeren való kimutatására. Azonban az *uvrA* gén mutációjának van egy negatív következménye, amely a tesztszervezet fokozott fény és UV érzékenységében nyilvánul meg. Ezért a PQ37-es törzset különösen óvatosan kell kezelni, és fénytől elzárva kell a kísérletet folytatni. A másik mutáns gén az *rfa*, amely a sejt lipopoliszacharid részére hat, megnövelve annak áteresztő képességét (QUILLARDET et al., 1982).

A β -galaktozidáz enzim koncentrációja kolorimetriás módszerrel mérhető, mely a megfelelő szubsztrát hozzáadásával kék színreakciót eredményez. A teszt a citotoxikus hatás mérésére az alkalikus foszfatáz enzimet használja, mely életképes sejt esetében folyamatosan termelődik, és

megfelelő szubsztrátot hozzáadva sárga színt mutat (XU és SCHURR, 1990; SOS-Chromoteszt Procedure, 2016)

A teszt alkalmas DNS károsító anyagok környezeti mintákban, élelmiszer összetevőkben, vagy biológiai származékokban való kimutatására (LEGAULT et al., 1994).



3.2. ábra. Az SOS-Chromoteszt működésének sematikus rajza (QUILLARDET és HOFNUNG, 1985). Indukálatlan sejt esetében az *sfiA* gén átíródása gátolva van a *LexA* szupresszor fehérje által. Indukált sejtben egy genotixikus anyag hatására a *RecA* proteáz aktiválódik, amely elbontja a *LexA* fehérjét. Ennek hatására a *sfiA* gén átíródik, β -galaktozidáz termelődik, aminek mennyiségét kolorimetriás módszerrel mérni lehet.

A tesztszervezet (*Echerichia coli* PQ37) szaporításához 10 ml Casitonee Broth médiumot használtam (3.4. táblázat), melybe 50 μ l, -80°C -on tárolt tesztszervezetet mértem és „overnight” tenyészetet készítettem 37°C -on, 170 rpm-en. A sejtűrűséget 600 nm-en (OD600) 0,05-re állítottam be.

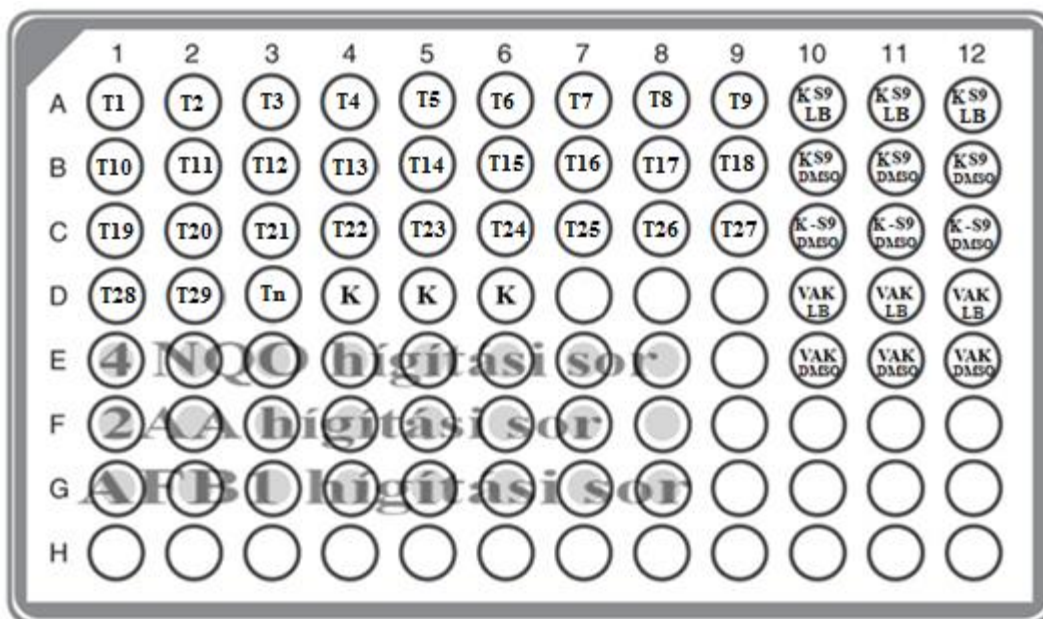
3.4. táblázat. A Casitonee Broth medium összetétele 1000 ml desztillált vízre vonatkoztatva. (KRIFATON et al., 2011).

Casitonee Broth medium	
élesztő kivonat	2,5g
kazein pepton	2,5g
NaCl	8,5g

A vizsgálat a gyártó útmutatása szerint folyt (Environmental Bio-Detection Products Inc., Kanada). Pozitív kontrollként alkalmaztam a direkt genotoxikus hatású 4-nitro quinoline-oxidot 4NQO, az indirekt hatású 2-amino-antracént 2AA, továbbá az indirekt hatású AFB1 toxint. A pozitív kontrollokat 1:2 hígítási sorban vittem fel a 96 lyukú mikrotiter lemezre (Greiner Bio-one GmbH., Németország). Hígító oldatként mindhárom esetben 10%-os DMSO oldatot használtam.

Az SOS-Chromotesztben a genotoxikus anyagok metabolikus aktiválásával modellezni lehet az emlősök szervezetében végbemenő metabolikus folyamatokat. Az AFB1 és a 2AA indirekt módon genotoxikus vegyületek, vagyis csak metabolikus aktiválással válnak az élő szervezet számára toxikussá. Ezt a metabolikus aktiválást az S9-mix alkalmazásával tehetjük meg, amely KCl és MgCl₂ oldatot, glükóz-6-foszfát oldatot, NADP-t, Tris HCl puffert, desztillált vizet és a mutagén anyaggal kezelt patkánymáj enzimkivonatot tartalmaz. Negatív kontrollként alkalmaztam az LB tápoldatot, továbbá 10%-os DMSO oldatot (3.3. ábra). „Vak” (negatív kontroll) oldatként a 10%-os DMSO oldatot és az LB tápoldatot készítettem, melyre tesztorganizmus nem került (3.3. ábra). A vak oldat segítségével tudunk olyan háttérabszorpciós értékeket mérni, melyeket a rendszerben szereplő (táp)oldatok és reagensek okozhatnak, így ezzel a háttérértékkel a későbbiekben korrigálni kellett méréseimet. S9-mixet tartalmaz az összes rendszer, kivéve a 4NQO direkt toxin hígítási sorát (4NQO toxinhoz nem szükséges metabolikus aktiválás), a vak oldatokat és az S9-mixet nem, csak 10%-os DMSO oldatot és tesztorganizmust tartalmazó kontroll beállításokat.

A kontrollok és a minták 10 µl mennyiségben kerültek kiosztásra a mikrotiter lemezre (3.3. ábra), majd ezekre 100 µl-t adtam az (aktiváláshoz szükséges) S9-mix és tesztorganizmus keverékéből álló szuszpenzióból. Végül 100 µl-t adtam a tesztorganizmusból az aktiválni nem kívánt pozitív kontrollra 4NQO és a hozzá tartozó negatív kontrollra. Ezután 37°C-on 2 óra inkubációs idő következett, majd az összes kontrollhoz és mintához 100 µl szubsztrátot adtam, mely 10 ml X-gal és 50 mg p-nitrofenil-foszfát keverékét tartalmazta. A *β-galaktoszidáz* és X-gal terméke kék színt eredményez, míg az alkalikus foszfatáz és p-nitrofenil-foszfát termékeként megjelenő vegyület sárga színű. A mikrotiter lemezt 1,5 órán át 37°C-on inkubáltam, hogy a színreakció bekövetkezzen. Végül 405 nm-en (sárga) és 620 nm-en (kék) ELISA reader (BIOTEK INSTRUMENT ELx 600, USA) használatával megmértem a minták abszorbanciáját.



3.3. ábra. A mikrotiter lemez vizsgálati helyeinek beosztása az AFB1 bontási kísérletből származó minták genotoxikus hatásának értékeléséhez, SOS-Chromoteszttel.

A mikrotiter lemezen az A, B, C sorok 1-9. illetve a D sor 1-3. helyein a kísérletben részt vevő minták jelei szerepelnek (T1-Tn). A 10-12. oszlopokban a negatív kontrollok és a vak oldatok helyezkednek el a következő sorrendben háromszoros ismétlésben: LB tápoldat S9-mixel és baktérium szuszpenzió (A sor), 10%-os DMSO oldat és S9-mixet tartalmazó baktérium szuszpenzió (B sor) és a 10%-os DMSO oldat és baktérium szuszpenzió S9-mix nélkül (C sor), „vak” LB tápoldattal és Casitone Broth tápoldattal (D sor), valamint „vak” 10 %-os DMSO oldattal és Casitone Broth tápoldattal (E sor). A pozitív kontrollok a következők voltak: A D 4-6. helyeken az AFB1 toxint és LB tápoldatot tartalmazó kontroll oldatok találhatóak. Az E sorban az 4NQO hígítási sora, az F sorban a 2AA hígítási sora, a G sorban pedig az AFB1 hígítási sora található.

Az eredmények kifejezésére az indukciós faktort (IF) alkalmaztuk, amely a genotoxikus aktivitás kifejezésére szolgál, mely az alábbi képlettel határozható meg:

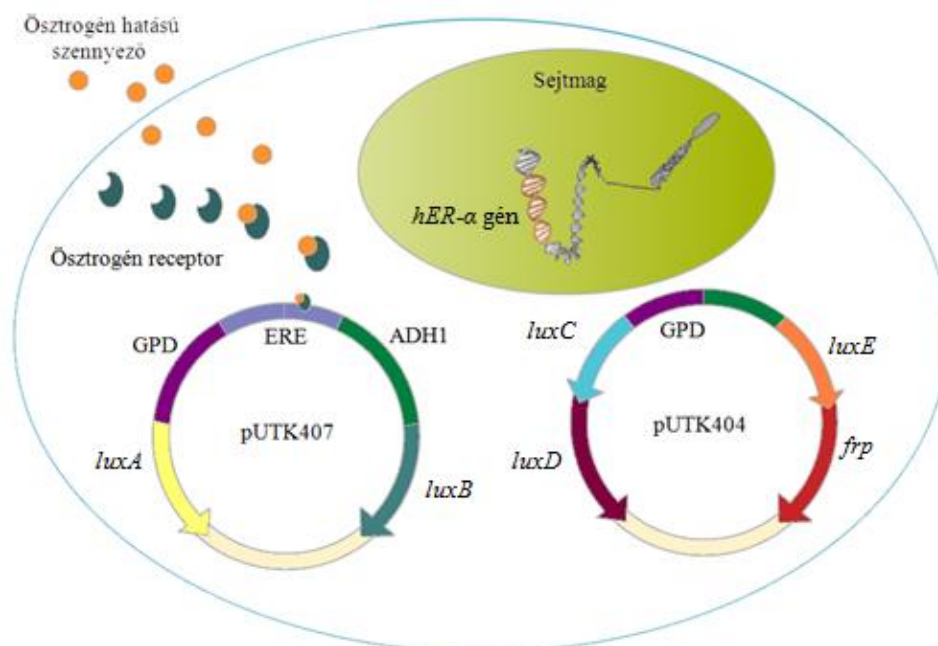
$$IF = (A405_{nc} \times A620_t) / (A405_t \times A620_{nc}),$$

ahol “nc” a negatív kontroll, a “t” pedig a teszt minta. A405 és A620 az abszorbancia érték 405 és 620 nm hullámhosszon. A pozitív kontrollok esetében az egyes koncentrációkhoz tartozó indukciós faktor értékekből koncentráció-válasz görbét állítottam, mely lineáris szakaszának meredekségéből számítható az SOS-indukciós potenciál (SOSIP). A SOSIP egy dimenzió nélküli szám, mely megmutatja, hogy a vizsgált anyag milyen mértékben indukálja az *sfIA* gént, azaz az anyag genotoxikus hatásának az erősségét. A pozitív kontrollok SOSIP értéke szakirodalomból ismert (4NQO=71; 2AA=1,1; AFB1=75), így a tesztet validnak értékeltem, ha a pozitív kontrollok SOSIP értéke a leírt értéknek megfelelt (QUILLARDET et al., 1985). A bontási kísérlet mintáinál az indukciós faktort vettem alapul, mely szakirodalmi adatok alapján genotoxikusnak számít, ha 1,5 vagy annál nagyobb (QUILLARDET et al., 1985, LEGAULT et al., 1994).

A kontroll és a vizsgált minták indukciós faktor értékeinek különbözőségét két-utas ANOVA elemzéssel végeztem el a három-három ismétlés segítségével a Past program (HAMMER et al., 2001) felhasználásával.

A BLYES-teszt alkalmazása ZEA biológiai (ED) hatásának mérésére

A BLYES-teszt (Bioluminescent Yeast Estrogen Screen) a *Saccharomyces cerevisiae* élesztő genetikailag módosított törzsét használja tesztstruktúráként hormonhatású anyagok, például a ZEA kimutatására. A BLYES-tesztet SANSEVERINO et al., (2009) fejlesztették ki (The University of Tennessee, Knoxville, USA). A BLYES *Saccharomyces cerevisiae* törzs biolumineszcens képessége ösztrogénhatású molekulák jelenlétében fokozódik (3.4. ábra). A BLYES-teszt ezt a képességet használja fel hormonhatás kimutatására. A BLYES-teszt esetében humán ösztrogén receptor génjét *hER- α* integrálták a genomba. A folyamatban két plazmid játszik szerepet, a pUTK407 és a pUTK404, amelyek tartalmazzák a *Photobacterium luminescens* mikrobából izolált *lux* géneket és a *Vibrio harveyi* baktériumból nyert *frp* gént, ami a flavin-mononukleotid redukcióért felelős (GUPTA et al., 2003). A pUTK407 plazmid egyszerre expresszálja a *luxA* és *luxB* gént; ezzel együtt a másik plazmidon (pUTK404) megtörténik az aldehid szintézisért felelős *luxC*, *-D*, *-E* és a flavin-mononukleotid redukcióért felelős *frp* gének átíródása. Mindkét plazmidon divergens (szétágazó) promóterek (GDP és ADH1) találhatóak, így az átírás egyszerre kétirányú folyamatban játszódik le. A pUTK407 promóterei közé beillesztettek tandem (egymás után ismétlődő) ösztrogén válaszelemeket, amelyek elindítják a plazmid átíródását. Ezzel együtt a másik plazmidra (pUTK404) egy közbenső riboszóma belépési hely (IRES) lett beillesztve, amely az eukarióta szervezetekben az összetett gének átíródásához szükséges. Így lehetséges a plazmidon a *luxC*, *-D*, valamint a *luxE* és az *frp* gének együttes átírása (SANSEVERINO et al., 2005). Ösztrogén jelenlétében tehát a tesztstruktúrák képesek a biolumineszcenciáért felelős géneket expresszálni, és ezáltal fényt kibocsátani, így detektálható a hormonhatás megléte.



3.4. ábra. A BLYES-teszt működésének vázlatja. (SANSEVERINO et al., 2005).

A sejtbe jutott ösztrogén hatású szennyező anyag képes kapcsolódni az ösztrogén receptorhoz, amely így elindítja a két plazmidon (pUTK404 és pUTK407) a biolumineszcenciáért felelős gének (*luxA-E*, *frp*) átírását azok promoterei segítségével (GPG, ADH1). Ösztrogén jelenlétében tehát a sejt fényt képes kibocsátani.

A BLYES törzs mellett a citotoxicitás mérésére szolgáló BLYR tesztszervezet szintén genetikailag módosított törzs, amely állandó fénykibocsátással rendelkezik. Sejtre toxikus anyag jelenlétében azonban csökkenti a fénykibocsátását. Mindezek alapján, a két törzs együttes alkalmazásával, a fénykibocsátás változásból következtethetünk az adott minta hormon-, illetve citotoxikus hatására (SANSEVERINO et al., 2009).

A BLYES és BLYR (*Saccharomyces cerevisiae*) törzsekből, -80°C -on tárolást követően, 1,5 ml-t pipettáztam 30 ml-nyi Growth Medium tápoldatba (ROUTLEDGE és SUMPTER, 1996), majd overnight tenyészetet készítettem 30°C -on, 170 rpm-en rázatás mellett (3.5. táblázat). A vizsgálatokat 96 lyukú fehér mikrotiter lemezekon végeztem (Greiner Bio-one GmbH, Németország) (3.5. ábra). A bontási kísérletről származó felülúszó minták kiadagolása során 20 μl minta került a mikrotiter lemez megfelelő helyeire. A tesztben két pozitív kontrollt alkalmaztam, így elkészítettem a $17\text{-}\beta$ -ösztadiol (E2) és a ZEA hígítási sorát, melyhez hígító oldatként metanolt használtam. Negatív kontrollként a tesztszervezeteket, a metanol és tesztszervezet keverékét, valamint 10%-os LB és tesztszervezet keverékét alkalmaztam, hogy meghatározzam a tesztszervezetek alap fénykibocsátását. A felszaporított tesztszervezetek sejtsűrűséget végül 600 nm-en (OD_{600}) 1-re állítottam be. A mintákra és a kontrollokra 200 μl tesztszervezetet tartalmazó szuszpenziót mértem, ügyelve arra, hogy a metanollal hígított kontrollok mindegyikéből elpárologjon a metanol, mert az elpusztítaná a sejteket. A lemezeket

30°C-on inkubáltam és a biolumineszcenciát 5 órával később mértem le Victor XMultilabel Plate Reader (Perkin Elmer Inc., USA) segítségével.

3.5. táblázat. A Growth médiumban (1000 ml-re vonatkoztatva) használt oldatok összetétele.

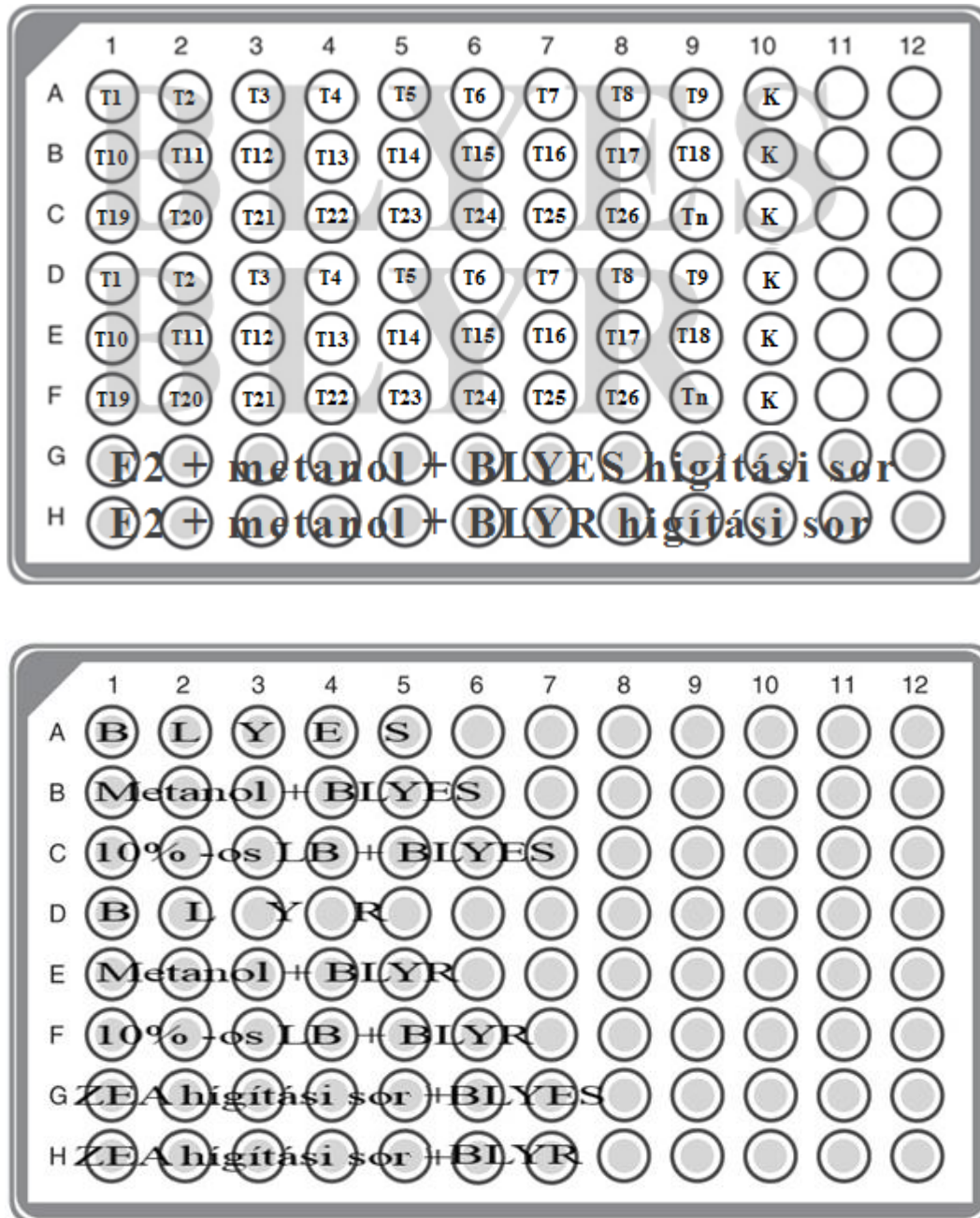
oldat	összetétel
YMM médium (854,5 ml)	11,63 g KH ₂ PO ₄ 1,69 g (NH ₄) ₂ SO ₄ 3,60 g KOH 0,17 g MgSO ₄ 855,00 µl FeSO ₄ (40mg/50ml H ₂ O) 42,70 mg L-Hisztidin 42,70 mg L-Adenin 17,00 mg L-Arginin-HCl 17,00 mg L-Metionin 25,60 mg L-Tirozin 25,60 mg L- Isoleucin 25,60 mg L-Lizin-HCl 21,40 mg L-Fenilalanin 85,45 mg L-Glutaminsav 128,20 mg L-Valin 320,00 mg L-Szerin
vitamin oldat (10 ml)	0,40 mg Tiamin 0,40 mg Piridoxin 0,40 mg Pantoténsav 2,00 mg Inozitol 1,00 ml Biotin oldat (2 mg/50 ml)
D-glükóz oldat (100 ml)	2,00 g D-glükóz, desztillált víz
L-aszparaginsav oldat (25 ml)	100,00 mg L-aszparaginsav, desztillált víz
L-treonin-oldat (8 ml)	192,00 mg L-treonin, desztillált víz
Réz-szulfát oldat (2,5 ml)	18,73 mg réz-szulfát desztillált víz

A mért biolumineszcencia értékekből FROEHNER et al. (2002) inverz képlete segítségével biolumineszcens inhibíció helyett intenzifikációt határoztam meg a következők szerint:

$$BI \text{ (Biolumineszcens intenzifikáció, \%)} = -1 \times [(nc-t)100/nc],$$

ahol “nc” a negatív kontroll minták inkubációs idő után mért biolumineszcens értékeinek aritmetikai átlaga, “t” pedig a tesztminták kontaktidő után mért biolumineszcens értékeinek átlaga.

A kontrollok és a minták biolumineszcens intenzifikációs értékeinek (n=3) különbözőségét két-utas ANOVA elemzéssel végeztem el Past program (HAMMER et al., 2001) felhasználásával.



3.5. ábra. A mikrotiter lemez vizsgálati helyeinek beosztása a ZEA bontási kísérletről származó minták hormonhatásának értékelésére az ED hatást mérő BLYES- és citotoxicitást jelző BLYR-tesztekkel. A fenti mikrotiter lemez ábráján a kísérletben részt vevő minták jelei (T1-Tn) szerepelnek a BLYES- és BLYR-tesztekhez. A felső ábra 10. oszlopában a bontási kísérletről származó ZEA-t tartalmazó kontroll minták (toxinok és LB tápoldat). Ugyanezen mikrotiter lemez G sorában a 17- β -ösztadiol (E2) metanolos hígítási sora helyezkedik el pozitív kontrollként. Az alsó ábra mikrotiter lemezének ábráján található a pozitív kontroll rendszerek: a ZEA hígítási sora BLYES és BLYR teszt-szervezetekkel (G-H sorok). Negatív kontrollként a következő oldatok szerepelnek: a BLYES-teszt-szervezet metanolos (B sor) és 10%-os LB tápoldatos (C sor) oldata, valamint a BLYR-teszt-szervezet metanolos (E sor) és 10%-os LB tápoldatos kontroll (F sor) oldata. Végül az A és D sorokban a tiszta BLYR- és BLYES-teszt-szervezetek kiosztásai találhatóak.

3.5.3. Monotoxin kísérlet

A bitoxin kísérlet előzetes eredményei alapján a 124 db *Streptomyces* törzsből a tíz leghatékonyabban bontó és minden esetben biológiai hatást is teljes mértékben megszüntető törzset kiválasztottam, melyeknél az AFB₁ és a ZEA biológiai lebontását külön-külön rendszerben is vizsgáltam három párhuzamos ismétlés beállításával. A cél a törzsek vizsgált toxinokra vonatkozó specifikus bontó képességének vizsgálata volt. A kísérlet körülményei megegyeztek a bitoxin kísérletben alkalmazott feltételekkel (3.5.2. fejezet). A két toxin koncentrációját ebben az esetben külön-külön 1 µg/ml-re (ppm) állítottam be. A bontási kísérlet mintáit különböző módszerekkel vizsgáltam. A megmaradt biológiai hatást SOS-Chromotesttel illetve BLYES és BLYR-tesztel ellenőriztem, a felülúszóban és a pelleten maradt toxinkoncentráció mérését pedig ELISA-tesztel végeztem.

3.5.3.1. A toxin koncentráció mérése ELISA-tesztel

A toxinkoncentráció csökkenését különböző analitikai módszerekkel nyomon lehet követni a bontást követően. Széles körben alkalmazott immunanalitikai módszer az ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), mely megbízhatóan alkalmazható mikotoxin vizsgálatok esetében is. A mikotoxinok mennyiségi meghatározása során a direkt ELISA-tesztet alkalmazzák. A módszer alapja az antitestek azon tulajdonsága, mely szerint kiválóan meg tudják különböztetni a mikotoxinok háromdimenziós szerkezetét (GROMADZKA et al., 2008). A monotoxin kísérletben, a fenti vizsgálatok elvégzésével párhuzamosan, a maradék toxin molekulák koncentrációját enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálattal (ELISA) határozta meg TOXIWATCH rendszerrel a gyártó (Soft Flow Biotechnology Ltd., Magyarország) utasításainak megfelelően egy akkreditált laboratóriumban. A TOXIWATCH ELISA Kits rendszerben 9,4 %-os metanolt használtam a mindkét toxin kinyerése (extrakció) érdekében.

A vizsgálat 96 lyukú mikrotiter lemezekon zajlik, ahol első lépésként immunglobulin G-t (*IgG*) kötnek a mikrotiter lemez falára. A megkötés után juttatják a mikrotiter lemezre az antigént, vagyis ebben az esetben a toxint. A toxin egy fehérjéhez, mint vivőanyaghoz kapcsolódik, mely az *IgG*-hez kötődik. A nemkötődő anyagok eltávolítása után újabb, már enzimmel jelzett immunanyagot juttatnak a lemezre, mely a megkötődött toxin másik feléhez kapcsolódik. A mért enzim alkalikus foszfatáz, melyhez szubsztrátként para-nitrofenil foszfátot adnak. Pozitív reakció esetén a szubsztrát para-nitrofenollá alakul, mellyel sárga színreakció következik be. A szín erőssége jelzi a mikotoxin koncentrációjának mennyiségét (CLARK és ADAMS, 1977).

A bontási kísérlet (három) párhuzamos rendszeréből (a 10 törzshöz tartozó és a toxint tartalmazó kontroll kísérlet beállításából) egy-egy mintát vettem, és ELISA teszttel megmértem a toxin molekulák koncentrációját. Az eredmények alapján a 10 törzs közül a legjobban bontó törzsek esetében a további két-két párhuzamos minta toxin koncentrációját is megvizsgáltam ELISA teszttel. Ennél fogva a kevésbé jól bontó törzseknél egy, a legjobban bontó törzsek esetében 3-3 koncentráció értéket kaptam. Az ismétlések esetében így már szórást is számíthattam.

3.5.3.2. *A mikotoxinok sejtfalon történő adszorpciójának kimutatása immunbiológiai módszerrel*

A biodegradációs eljárások vizsgálatánál figyelembe kell venni, hogy a baktériumok biokémiai folyamatain kívül (enzimatis lebontás), egyéb hatások (pl. adszorpció, egyéb fizikai folyamatok) esetlegesen okozhatnak-e csökkenést a vizsgált szennyező anyagok koncentrációjában. Annak érdekében, hogy ezt a feltevést az AFB1 és a ZEA molekulák esetében teljesen kizárjam, megvizsgáltam ELISA-teszt segítségével a degradációs kísérlet pelletfrakcióját, amely a teljes sejttömeget tartalmazza. Ezt a vizsgálatot (a bitoxin screen alapján kiválasztott 10 törzs közül) csak a leghatékonyabban bontó törzsekkel végeztem el.

A ZEA molekula szerkezeti felépítése miatt - az AFB1 molekulával ellentétben - hatékonyan képes megkötődni a sejtfalon (pl. TINYIRO et al., 2011), ezért a ZEA molekula megkötődésének vizsgálata még jobban indokolt, mint az AFB1 molekuláé. A ZEA molekulák *Streptomyces* sejtfalhoz történő kötődését ezért inaktív sejtes kísérletben is megvizsgáltam. Az ellenőrző vizsgálatban az inaktivált, (éles gőzzel, autokláv segítségével és frakcionált sterilizációval, három egymást követő 25 perces intervallum 100°C-on történő hőközléses eljárással) előlt sejteket tartalmazó LB tápoldatot toxinnal kezeltem, melyek mellé kontrollként sejteket nem tartalmazó toxinos LB tápoldatot állítottam. A kísérleti elrendezés a monotoxin rendszerben leírtaknak felel meg, kivéve hogy az inkubációs periódus ebben az esetben 12 óráig tartott ($28 \pm 2^\circ\text{C}$, 170 rpm). Az ezt követő mintavétel után BLYES-teszttel vizsgáltam a hormonhatás változását, melyet szintén a korábban bemutatott módon végeztem el.

3.6. Antimikrobiális gátlás hatás vizsgálata

A gyűjteményben szereplő *Streptomyces* törzsek antimikrobiális hatását kétféle kísérleti rendszerben - agar diffúziós lyukteszt és keresztcsíkozásos teszt - hat különböző mikroszervezettel szemben vizsgáltam.

3.6.1. A gátlási kísérletekben alkalmazott teszt mikroorganizmusok

A vizsgálataimhoz a tesztmikroorganizmusokat az alábbi szempontok alapján választottam ki. A Gram-pozitív és negatív prokarióta csoportokat a *Bacillus subtilis* illetve az *Escherichia coli* képviselte. Utóbbi fakultatív anaerob mikroszervezet, amely egészségügyi kockázatot jelenthet a magasabb rendű szervezetekben, előbbi pedig spórás, szintén aerobok is lehetnek. Harmadik prokarióta tesztorganizmusként a *Pseudomonas aeruginosa*-t választottam jelentős klinikai szerepe miatt (http3). A *P. aeruginosa* kórházi környezetben jelentős problémákat okoz antibiotikum (multi)rezisztenciája, virulenciája, illetve nozokomiális fertőzések kiváltása révén. Az eukariótákat három, biológiai kísérletekben gyakran alkalmazott gombafaj képviselte. A *Saccharomyces cerevisiae*-t az antifungális szerekkel szembeni nagymértékű érzékenysége, az *Aspergillus fumigatus*-t humán egészségügyi vonatkozásai, a *Fusarium ploriferatum*-ot meg növénykórtani szerepe miatt választottam. Ha a vizsgált *Streptomyces*-ek gátolják a tesztorganizmusok élettevékenységét, akkor a tesztorganizmusoknál redukált telepfejlődés detektálható. A gátlási kísérleteim során alkalmazott tesztorganizmusok tulajdonságait az alábbiakban mutatom be.

A *Bacillus subtilis* (*Firmicutes* törzs, *Bacillales* rend) egyike a legjobban ismert és vizsgált baktériumoknak (SONENSHEIN et al., 2002), mivel kiemelt jelentőséggel bír mezőgazdasági, ipari, géntechnológiai és tudományos területeken (ACKERMANN et al., 1995). Gram-pozitív, oxidatív és/vagy fermentatív, esetleg mindkét tulajdonsággal rendelkezik. Általában kataláz pozitív, kemoorganotróf, anyagcseréje a szubsztráttól függően légzési eredetű, erjedéses vagy mindkettő. Aerob vagy fakultatív anaerob. Spórát képez 5,5-8,5 pH értékeken. Oxigén jelenlétében a nem savas jellegű élelmiszerekben elszaporodhat (SIMON et al., 1991).

Az *Escherichia coli* (*Proteobacteria* törzs és *Enterobacteriales* rend) előfordulhat talajban és vízben, valamint növényekben és állatokban. Egyes esetekben kórokozóként viselkednek, ugyanakkor számos baktérium jelen lehet az emberi szervezetben anélkül, hogy bármilyen káros hatást, betegséget okozna. Az *Escherichia coli* tehát jellemzően kommenzalista, de bizonyos esetekben különféle emberi betegségek kialakulását válthatja ki, mint például a vastagbélgyulladás, gyomor- és bélhurut, továbbá húgy- és ivarszervi betegségek (ÁROKSZÁLLÁSY et al., 1968, MANNING, 2010). Fakultatív anaerob baktérium, amely fermentációra képes. Optimális növekedési hőmérséklete 37°C, könnyedén növekednek az egyszerű tápközegek széles skáláján. Az ember és a gerinces állatok bélcsatornájában fontos szerepet játszanak a vitaminellátásban. Élelmiszerekben és ivóvízben való tömeges előfordulása azonban fekális szennyezésre utal.

A *Pseudomonas aeruginosa* a *Proteobacteria* törzsbe és a *Pseudomonadales* rendbe sorolható. Optimális szaporodási hőmérséklete 37°C körül van, de 42°C-on is jól fejlődik. Nagyon elterjedt a talajban és a szennyvizekben. Kórokozóként sebektől, tályogokból izolálják őket legnagyobb számban, gyakran társul más gennykeltő baktériumokkal. A *Pseudomonas aeruginosa* különböző fertőzéseket okozhat korábban egészséges embereknél. A legtöbb ilyen megbetegedés a bőr, légutak, lágy szövetek, húgyutak és a külsőfül felületén jelentkezik. Általában nem életveszélyes, de előfordulhat súlyosabb vagy akár halálos kimenetelű megbetegedés is általa (HAUSER és RELLO, 2003). Az Amerikai Egyesült Államok Járványkezelési- és Megelőzési Központja által közzétett lista szerint 2013-ban a *P. aeruginosa*-t a „komoly fenyegetést” jelentő csoportba sorolták a multirezisztens baktériumok között (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2013). A WHO (World Health Organization) 2017 februárjában közölt lista alapján a *Pseudomonas aeruginosa*-t már a legkritikusabb antibiotikum (carbapenem) rezisztens baktérium fajok között tüntették fel (<http4>). Magyarországi viszonylatban az Országos Epidemiológiai Központ adatai szerint 2015-ben több mint 17 000 betegből izoláltak *P. aeruginosa* baktériumot (<http3>). A tanszéken környezeti eredetű *P. aeruginosa* törzsek kerültek antibiotikum rezisztencia vizsgálat alá, ahol – a vizsgálataim során tesztorganizettként használt – P18 jelölésű törzs korongdiffúziós antibiotikum rezisztencia vizsgálata során 31 hatóanyag közül 14-gyel szemben mutatott rezisztenciát (KASZAB, 2010).

Az élesztőgombákhoz tartozó *Saccharomyces cerevisiae* (*Ascomycota* törzs, *Saccharomycetales* rend) sejtfallal rendelkező, egysejtű eukarióta mikroszervezet, mely heterotróf életmódot folytat. Vegetatív sejtosztódása jellegzetesen sarjadással valósul meg, ezért sarjadó gombának is nevezik. Laboratóriumi körülmények között az élesztő sejtek gyorsan növekednek mindaddig, amíg ki nem merítik a rendelkezésre álló tápanyagforrást. Ekkor a diploid sejtek stressz rezisztens spórákat hoznak létre, amelyek akár évekig is életképesek maradhatnak tápanyagok nélkül is. A haploid sejteknek azonban nincs meg ez a lehetőségük, helyette alacsony metabolikus állapotba lépnek (stacioner fázis), amelyben akár hónapokig is túlélhetik a tápanyaghiányt (HEGEDŰS, 2010).

A *Fusarium proliferatum* (*Ascomycota* törzs, illetve *Hypocreales* rend) hazánkban nagy gazdasági jelentőséggel bíró növénykórokozó, toxintermelő fonalagomba (KERÉNYI et al., 2007). Izolálták már kukoricáról, búzáról, spárgáról, rizsről, cirokról, datolyapálmáról és fokhagymáról is. Európa déli részein az őszi búzakarász fuzáriózisában játszik fontos szerepet. Gyökér-, szár- és tőrothadást okoz a kukoricánál, de a tárolt kukoricaszemekre nézve is komoly veszélyeket jelenthet. Sok esetben nem okoz termés kiesést, de az állat- és humán-

egészségügyben előfordulása komoly kockázatot jelent, ugyanis másodlagos anyagcseretermékként fuzarinsavat és mikotoxinok egész sorát termeli (fumonizineket, moniliformint, beauvericint, fuzaproliferint) (JENEY, 2006). Embernél maradandó látáskárosodással járó fuzáriumos keratitis okozhat, amely jellemzően a szaruhártya gyulladása. Emberen kívül például lovon bőr keratitist, agylágyulást, kutyánál meningoencefalitist írtak le fuzáriumos fertőzés következtében. A meningoencefalitisz egyszerre jelent agyhártya és agyvelőgyulladást (KOHUT, 2009).

Az egész világon elterjedt, talajlakó *Aspergillus fumigatus* (Ascomycota törzs és Eurotiales rend) fontos szerepet játszik a szerves anyagok aerob bontásában, a szén- és nitrogén körforgásában. Opportunista emberi kórokozó, amely több gyakori megbetegedés kialakulását is okozza, mint például az aspergillosist, amely a tüdő megbetegedése, és nehézlégzés, köhögés és láz tünetekkel jár (LATGÉ és STEINBACH, 2009). Talajban, trágyában és komposztban is nagyon elterjedt termofil faj (ÁROKSZÁLLÁSY et al., 1968).

3.6.2. Tesztorganizmusok előkészítése

A gátlási vizsgálatokhoz felhasznált előbbieken bemutatott mikroba tenyészeteket $28 \pm 2^\circ\text{C}$ hőmérsékleten 72 órát inkubáltam, majd a kifejlődött tenyészeteket felhasználásukig hűtőszekrényben tároltam $+4^\circ\text{C}$ -on két párhuzamos ferde agar csövön. Az átoltások gyakorisága a baktériumok és az élesztőgombák esetében 96-120 óra volt (fejlődésükhöz szükséges konkrét időtartam), a fonalas gombákat elegendő volt 168-240 óránként átoltani. Erre azért volt szükségem, mert a táptalajból egy bizonyos idő elteltével elfogynak a tápalkotó komponensek, ekkor a vízveszteség miatt a táptalaj beszárad, valamint a tápanyagok hiányában a mikroszervezet a lét- és nem a fajfenntartásra fordítja az energiáját. A keresztcsíkozásos teszt elvégzéséhez a baktérium és gomba tesztorganizmokat a fentiek alapján készítettem elő. A *Bacillus subtilis*-t DSM 347 és a *Pseudomonas aeruginosa*-t P18 TGE-5 (3.6. táblázat), az *Escherichia coli*-t K12 LB ferde agaron (3.3. táblázat), a *Saccharomyces cerevisiae*-t 1132, *Fusarium proliferatum*-ot 5/1, illetve az *Aspergillus fumigatus*-t 2233 pedig vásárolt PDA (Potato Dextrose Agar, Merck 39 g/ 1000 ml desztillált víz) táptalajon tároltam. A fent említett törzsek a Szent István Egyetem Környezetbiztonsági és Környezettoxikológiai Tanszék tulajdonát képezik (fajazonosító jelölés a fajnevek mögött található). A prokarióta tesztorganizmok fajmeghatározása 16S rDNS analízis alapján, míg az eukarióta tesztorganizmok pedig ITS régió alapján történt.

3.6. táblázat. A tesztorganizmusok tenyésztésére használt táptalajok összetétele 1000 ml desztillált vízre vonatkoztatva.

	TGE-5 agar	TGE-5 folyékony
Tripton	5,0 g	5,0 g
Élesztőkivonat	2,5 g	2,5 g
Glükóz	5,0 g	5,0 g
pH	7,0	7,0
Agar	15,0 g	-

3.6.3. Keresztcsíkozásos teszt

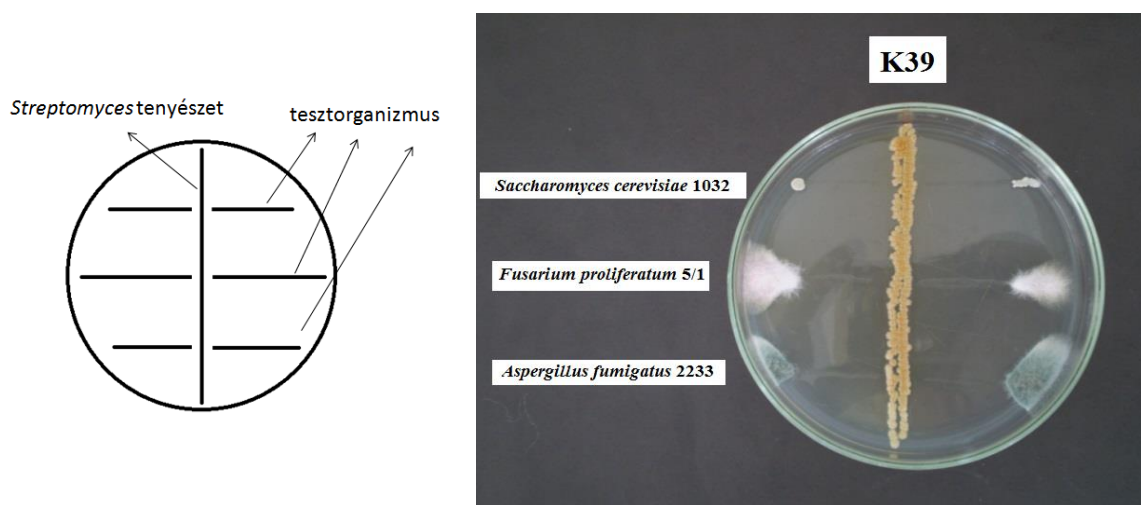
A módszer viszonylag egyszerű és könnyen kivitelezhető, illetve jól alkalmazható nagyszámú minták elemzésére, ezért esetemben előszelekciónak minősült (3.6. ábra). Elsőként a jó mikotoxin bontó törzsek esetében végeztem el az antimikrobiális hatás vizsgálatát, mivel bioremediációs kezelésekhez a jó antimikrobiális képességű (esetlegesen antibiotikus szert termelő) törzsek nem, vagy csak korlátozottan alkalmazhatók környezetegészségügyi problémák és szempontok miatt. A kísérlet során azonban további törzsek antimikrobiális hatásának szkrínelését is elkezdtem, törekedve arra, hogy a lehető legtöbb törzs szerepeljen a vizsgálatban.

Az individuális *Streptomyces* törzset tartalmazó szuszpenziót GYM táptalajon (3.1. táblázat) 96 órán át inkubált telepekből készítettem. A kísérletbe vont törzsek agarlemezeit egységesen ~22 ml steril burgonya-glükóz tápagart (PDA) mérőhenger használatával készítettem el Petri-csészébe. A PDA táptalaj nagy mennyiségű C és N forrást tartalmaz, így mind a teszt mikroorganizmusok, mind pedig a kísérletbe volt *Streptomyces* törzsek is egyaránt jó hatékonysággal növekednek azonos feltételek biztosítása mellett. Az egyes *Streptomyces* törzsek szuszpenziójából a lemez felületére oltókaccsal csíkot húztam a csésze egyik szélétől az átellenes széléig. A lemezeket 120 órán keresztül 28 ± 2 °C-on hőlég keveréses Memmert termosztátban inkubáltam. 120 óra elteltével az oltásnyom hosszú, szalag alakú teleppé fejlődött. A tesztmikrobák csíkjait merőlegesen vittem fel a lemezre a lemez szélétől kiindulva a már kinőtt tenyészet széléig (3.3. ábra). Ügyelni kellett arra, hogy a tesztszervezetek csíkjainak húzása közben ne érintsem az üvegbottal a már agar felületen lévő *Streptomyces* tenyészcsíkját. A tenyészcsík közvetlen közelében képződő spórák ugyanis rátapadhatnak az üvegbotra, és így a csík húzása során megfertőződhet a tesztszervezet. Ennek elkerülése érdekében szükséges a tenyészcsík és a tesztszervezet csíkja közötti 1-2 mm-es izolációs távolságot megtartani, illetve számolni azzal.

A keresztcsíkozásos módszer előnye, hogy egyszerre akár 4-6 tesztmikroba érzékenységének vizsgálatát is lehetővé teszi. Ebben a vizsgálatban azonban egyszerre csak 3-3 fajt vizsgáltam

(külön rendszeren belül) úgy, hogy az antifungális és antibakteriális hatást külön detektálam. A vizsgálatot minden törzs esetében háromszoros ismétléssel végeztem el. Inokulumként a gombák és baktériumok 72 órás sejtlejének ferde agarról lemosott szuszpenzióit használtam (hűtött állapotban, PDA táptalajon történt a tárolás).

A lemezeket 96 órán keresztül $28 \pm 2^\circ\text{C}$ -on inkubáltam, majd kiértékeltem a tenyészeteket: vizsgáltam a növekedésüket vagy annak hiányát az antagonista közegében. A gátlási (feltisztulási) zónákat, melyen belül a tesztorganizmus nem növekedett, mm-ben fejeztem ki. Az izolációs távolság miatt a kiértékelés során a legalább 3 mm-es feltisztulási zónát tekintettem gátlásnak. A mérésekről fotódokumentációt követően minden esetben jegyzőkönyvet készítettem. A dolgozat megszületéséig 160 törzs keresztcsíkozásos tesztelése történt meg.



3.6. ábra. Antimikrobiális hatás vizsgálata keresztcsíkozásos módszerrel.

A jobb oldali képen a *Streptomyces cellulosae* K39 törzs látható, amely gombafajok ellen termelt antifungális anyagot, mely feltisztulási zónákat hozott létre. A bal oldali kép ennek a folyamatnak a vázlatja, miszerint a középre húzott csík *Streptomyces*-hez és az oldalon megjelölt csíkok pedig a tesztmikrobákhoz tartoznak. (A szerző saját felvétele.)

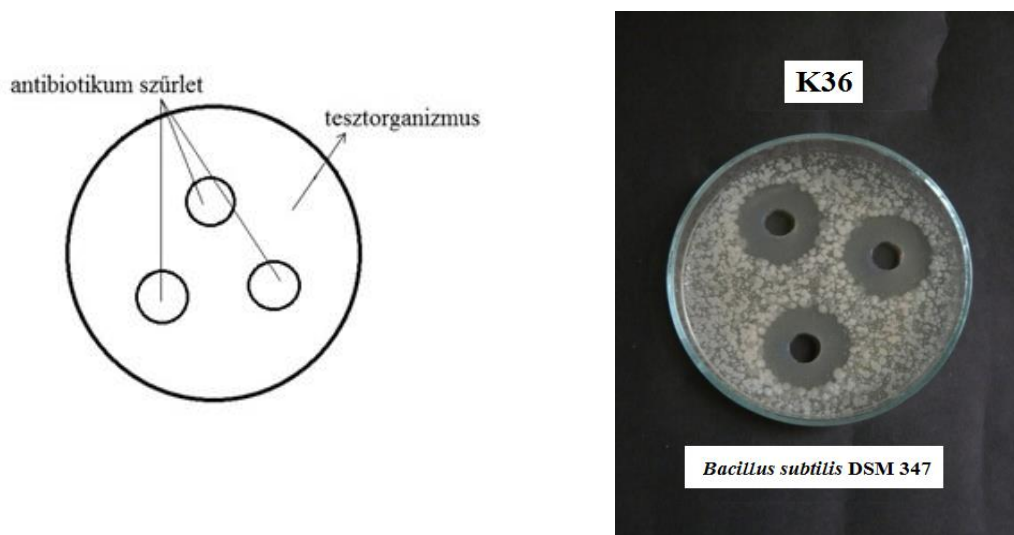
3.6.4. Az antimikrobiális hatás tesztelése agardiffúziós lyukteszt módszerrel

Ezt a módszert gyakran alkalmazzák az antibiotikus szert termelő képesség vizsgálatára (pl. SHOMURA et al., 1979; BONEV et al., 2008). Első lépésben beoltottam a vizsgálni kívánt *Streptomyces* törzsekből 1 ml baktérium szuszpenziót GYM táplevest (3.1. táblázat) tartalmazó Erlenmeyer-lombikba (100 ml), majd 120 órát rázótermosztátban inkubáltam $28 \pm 2^\circ\text{C}$ -on, 170 rpm fordulatszámon. Ezt követően a lombikok tartalmát lecentrifugáltam, hogy a számomra szükségtelen sejtek leülepedjenek, és az anyagcsereterméket tartalmazó felülúszót steril, 0,2 mikronos szűrővel átszűrhessem.

A gátló hatás meglétét jelző tesztorganizmokat 48-72 órás tenyészetéből (növekedési állapottól függően) szuszpenziót készítettem. Petri-csészékbe kimértem egységesen ~22 ml folyékony állagú PDA táptalajt, melyet a tesztorganizmokról készített szuszpenzió 1 ml-ével oltottam be.

Röviddel a megszilárdulást követően 10 mm-es átmérőjű, rozsdamentes acélból készült steril dugófűrő segítségével lyukakat fúrtam a táptalajba (3.7. ábra). Ezekbe steril 1 ml-es beosztott pipettával 85 µl-t töltöttem fel a (véltetően antibiotikum molekulát/kat tartalmazó) szűrletből. A szűrletek kiadagolása után a lyukasztott lemezeket 4 óráig 4°C-on hűtőszekrényben állni hagytam. Ez a hőmérséklet alkalmas arra, hogy a véltetően gátló, antibiotikus hatású molekulákat tartalmazó steril szűrlet az agarba diffundálhasson. Ezzel egyidőben a Petri-csészében lévő teszt mikroorganizmus szaporodása gátolt. Ezek után a tesztmikroszervezeteket 72 óráig $28 \pm 2^\circ\text{C}$ hőmérsékleten inkubáltam (MEMMERT termosztát). Inkubálás után a szűrlet gátló hatása már megállapítható. A kör alakú gátlási zónának az átmérőjét mértem meg mm-ben. A módszer nagy előnye, hogy egyetlen tenyészfolyadék aktivitását egy Petri-csészén belül többszörös ismétléssel lehet vizsgálni. A vizsgált törzs hatóspektrumát akár több száz különböző tesztörzssel szemben is detektálhatjuk. A fenti vizsgálatoknál (3.6.1. fejezetben) leírt 6 tesztorganizmet ellen mutatott antimikrobiális aktivitást vizsgáltam. Minden törzs esetében háromszoros ismétléssel dolgoztam, és kontrollt alkalmaztam, melyek hasonló beállítással rendelkeztek. Az azonos feltételek megteremtése érdekében a kontroll esetében a furatokba a tenyészfolyadék szűrlete helyett steril desztillált vizet pipettáztam és úgy inkubáltam.

A kísérletbe a faji szinten identifikált *Streptomyces* törzsek közül 74 törzs agardiffúziós lyuktesztelése történt meg.



3.7. ábra. Az agardiffúziós lyukteszt kivitelezése. A *Bacillus subtilis* DSM 347 tesztorganizmus *Streptomyces turgidiscabies* K36 törzsszel történő kísérleti elrendezése (bal oldali kép). A tesztorganizmust tartalmazó agarlemezbe fúrt lyukakba adagoltam a feltételezhetően antibiotikum származékokat tartalmazó szűrletet (jobb oldali kép). (A szerző saját felvétele.)

3.7. A *Streptomyces* törzsek detoxifikációs és antimikrobiális hatásának összevetése

A detoxifikációs és az antimikrobiális módszerek összevetéséhez három korrelációs elemzést végeztem el. Elsőként a két detoxifikációs módszer eredményeit vettem össze a bitoxin és a monotoxin rendszereken belül. Ennek során az SOS-Chromoteszt indukciós faktor értékeit hasonlítottam össze a BLYES-teszthez tartozó értékekkel. Utóbbi esetben nem a biolumineszcencia intenzifikációs értéket használtam, mivel a különböző kísérleti körökhöz eltérő BI% tartományok tartoztak, ami torzította volna az eredményeket. Ennek megfelelően az egyes kísérleti körökhöz tartozó kontroll minták biolumineszcencia intenzifikációjához viszonyított %-os értékeket használtam a kontrollt 100%-nak véve. A negatív BI% értékeket 0%-nak vettem. A negatív értékek azt jelentik, hogy a hormonhatás teljesen megszűnt, így a 0% alkalmas a hatás megszűnésének kifejezésére. A bitoxin és a monotoxin rendszer esetében is Spearman-féle korrelációt számoltam az IF értékek és a BI százalékos értékek között, mivel az adatok még transzformálást követően sem lettek normális eloszlásúak.

A második korrelációs elemzésben a két antimikrobiális módszer (keresztcsíkozásos és agardiffúziós lyukteszt) eredményeit hasonlítottam össze. Az egyes törzsekre kiszámolt gátlási zóna mm-ben mért értékeinek összegét vettem össze a két módszer között azon törzsek esetében, amelyek mind a két tesztben részt vettek. A gátlási zónák összegzését mind a hat tesztorganizmus, a három baktérium- illetve a három gomba tesztorganizmus szerint végeztem el. Itt is Spearman-féle korrelációs koefficiens használtam.

A harmadik elemzésnél a detoxifikációs értékeket vettem össze az antimikrobiális kísérletek eredményeivel. Külön hasonlítottam össze a monotoxin és a bitoxin kísérlet eredményeit a keresztcsíkozásos és az agardiffúziós lyukteszt eredményeivel, melyekben külön vettem a baktériumok és a gombák ellen detektált gátlási zóna értékeket. A monotoxin kísérletnél csak 9 törzset tudtam a vizsgálatba vonni a 10 helyett, mert a K116-os törzs nem szerepelt egyik antimikrobiális kísérletben sem. Ha a Spearman-féle korrelációs koefficienssel találtam korrelációt az egyik tesztorganizmus csoportnál, akkor külön is megvizsgáltam az egyes tesztorganizmus fajokra vonatkozó korrelációt. A számításokat RStudio Programmal (RStudio Team, 2015) végeztem el.

3.8. Törzsfenntartási módszerek és a *Streptomyces* törzsgyűjtemény kialakítása

A törzsgyűjtemény *Streptomyces*-ként meghatározott törzseiből végül egy tanszéki *Streptomyces* törzsgyűjteményt hoztam létre, melynek tagjait jelenleg is fenntartom. Annak

érdekében, hogy a revitalizált törzseket hosszabb távon is alkalmazni tudjuk, a tenyésztéses eljárás mellett szükséges volt az identifikált és ismert tulajdonságú törzsek további, hosszútávú tárolásának biztosítása. A baktérium törzsek ugyanis különböző környezeti feltételek mellett megváltoztathatják enzimtermelő, szaporodó és fajra jellemző egyéb speciális tulajdonságaikat. Az iparban, mezőgazdaságban és gyógyászatban hasznosítható baktérium törzsek hosszú távú fenntartásához, tulajdonságaik megőrzéséhez speciális módszerekre van szükség. A törzsgyűjtemény tagjainak hosszú távú fenntartáshoz, a revitalizálás után, a kísérletekkel párhuzamosan elvégeztem a törzsgyűjtemény tartósítását. Az ismételt mikroba-tartósítást két módszerrel: fagyasztva-szárítással (liofilizálás) és -80°C -os tárolással valósítottam meg.

3.8.1. Liofilizálás

A mikroorganizmusok hosszú távú tárolására az egyik legjobb módszer a liofilizálás vagy fagyasztva szárítás (HOPWOOD és FERGUSON, 1969, GHERNA, 1994). A törzsgyűjtemény-kultúrákat is liofilizátumok formájában célszerű tárolni az információvesztés elkerülése érdekében. Az ampullában lévő vákuum erősen redukálja a kíméletesen megszáritott tenyészet raktározás alatti (tárolás során bekövetkező) hő pusztulását. Definíciószerűen a fagyasztva szárítás vagy liofilizálás a száraz állapot elérésére irányuló olyan módszer, melyben a nedves anyag kifagyasztását követően a víztartalom szublimációval távozik el. A mikroorganizmusból és környezetében lévő víz eltávolítása kíméletes módon történik, alacsony hőmérsékleten (-30 , -40°C), nagy vákuum mellett. A folyamat alatt védőkolloidok (pl. szérum-fehérje) csökkentik a mikrobapusztulást. Az eltarthatósági (visszanöveszthetőségi) idő - mikrobától függően - az 5 - 50 év tartományban van (HOPWOOD és FERGUSON, 1969).

A revitalizált törzsek (felszaporodástól függően a 96-120 óra közötti) GYM-agarlemez tenyészeit használtam. A jól fejlődő tenyészetekről inozitos vivőanyaggal, szérum-fehérjével (Myo-Inozitol, FLUKA Inc., USA) aseptikus körülmények között készítettem szuszpenziót. Az ampullákba 270 - 270 μl -t vittem Pasteur pipetta segítségével, majd óvatosan laza vattadugóval zártam le azokat. Törzsenként 5 - 5 ampullát készítettem elő. A liofilizáláshoz Micromodulyo (EDWARDS, USA) típusú liofilizáló gépet használtam. Az elsődleges szárítási lépcsőben a mintákat 7-8 percig mérsékelt vákuum alatt 2000 g-n centrifugáltam a habzás és a csőből való kifutás meggátlása érdekében. Ezt a műveletet háromszor ismételtam, míg a szuszpenzió a belső cső falára nem dermedt. A centrifugálás végére a rendszerben 100 Hg-mikron vákuum alakult ki. Az elsődleges szárítás időtartalma minden esetben 24 óra volt, a periódus végére 1 - 5 Hg-mikron vákuum volt detektálható. A másodlagos páraelvonás előtt gázégővel 1-2 mm-es üvegyakakat húztam az ampulláknak. A másodlagos szárítás regenerált páracspárával 4 órán

keresztül folyt, 1 Hg-mikron vákuum alatt. A folyamat végén az ampullákat vákuum alatt, gázegővel (oxigén és acetilén gáz elegyével) forrasztottam le, majd sérülés mentességüket megőrizve, az ampullákat külön védőcsőben feliratozva, 20°C-on és sötét helyen kibélelt dobozokban tároltam.

3.8.2. Mélyhűtéses fagyasztás

Alternatív módszerként választottam a mélyhűtéses fagyasztást, amely során -80°C hőmérsékleten tároltam a mikroorganizmusokat védőfolyadék jelenlétében. Ilyen alacsony hőmérsékleten a mikrobák évekig tárolhatók változatlanul. Védőfolyadékként 30 v/v%-os glicerin oldatot használtam, mivel ez a molekula megakadályozza, hogy a víz éles kristályai fagyás közben roncsolják a baktérium sejteket vagy ezen törzsek esetében a sejtfalat. Törzsenként 5x750 µl, 30%-os glicerolos szuszpenziókat állítottam elő és -80°C-os ultramélyhűtőben (SANYO U3386S, USA) tárolom őket 2 ml-es Cryo-csőben.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. Revitalizálás és molekuláris biológiai identifikálás

A 494 törzsből álló gyűjteményből 87 törzset nem sikerült revitalizálnom, így a további vizsgálatok számára ezek a törzsek elvesztek. A későbbi vizsgálatokat a megmaradt 407 törzssel végeztem el. A 407 revitalizált törzsből a 16S rDNS azonosítási eljárás alapján 380 törzs 131 különböző *Streptomyces* fajhoz tartozott (MELLÉKLET 2.), 11 törzs a *Rhodococcus* nemzetség tagja és további 8 törzs egyéb nemzetségekbe tartozott (úgy mint *Micrococcus*, *Nocardia*, *Nocardiopsis*, *Pseudonocardia*, *Thermoactinomyces* és *Ureibacillus*), illetve 8 törzs taxonómiai hovatartozása még meghatározás alatt van (MELLÉKLET 4.). A *Streptomyces* gyűjtemény 16S rDNS szekvenciái közül a dolgozatom elkészítésének időpontjában 287 db-ot a NCBI GenBank adatbázisban szabadon hozzáférhetővé tettem (azonosító kódok: MF860423-től MF860709-ig).

4.2. Számítógépes adatbázis felállítása a törzsgyűjteményről

A 407 revitalizált törzs esetében megvizsgáltam a növekedési erélyt három különböző hőmérsékleten (24, 28, illetve 45°C-on) és két különböző táptalaj típuson (szilárd és folyékony GYM táptalaj). Továbbá elvégeztem a törzsek makroszkopikus vizsgálatát. Ezekből az adatokból egy elektronikus adatbázist hoztam létre (MELLÉKLET 2-4.). Az adatbázisból a törzsek fenotípusos tulajdonságai, illetve a munkám során kapott eredmények, adatok és információk, valamint a telepek fotói a további vizsgálatokhoz rendelkezésre állnak.

4.3. Hőmérsékleti optimum meghatározás és makroszkopikus vizsgálat

A törzsgyűjtemény egyes tagjait komposztból, ill. tőzegből izolálták, amelynek hőmérséklete akár a 60°C-ot is elérheti (GOLUEKE, 1991), így feltételezhető volt, hogy a baktériumok hőmérsékleti toleranciája akár ezt az értéket is megközelítheti. A teljes gyűjteményből összesen 80 darab törzs mutatott növekedést 45°C-on, ebből 68 törzs *Streptomyces* nemzetségbe tartozott (MELLÉKLET 3-4.).

Az általam választott módszerrel 94 törzsnél tapasztaltam spóratermelést. Pigment termelést pedig 122 törzsnél figyeltem meg. A pigmentek színe jobbra barna, de észleltem a sárga, a zöld, a kék és a piros különböző árnyalatait is. A pigmentáció folyamata a másodlagos anyagcseretermékek keletkezésének tudható be, és akár a hőmérséklettel is változhat. A pigmentek színe egy fajon belül változhat, ami bizonytalanná teszi az ilyen alapon történő

osztályozásukat. A melaninról azonban kimutatták, hogy *Streptomyces*-ek bizonyos csoportjainak azonosítására is alkalmas lehet (DASTAGER et al., 2006).

Új tudományos eredmény:

(1. tézis) Az törzsgyűjtemény revitalizálását követően a gyűjtemény tagjait 16S rDNS alapú módszerrel faj szinten azonosítottam, hőmérsékleti optimumait és egyéb fiziológiai paramétereit meghatároztam, majd létrehoztam egy 380 tételből, és ezen belül 131 különböző *Streptomyces* fajból álló törzsgyűjteményt, melyek tagjait törzsfenntartási módszerekkel hosszú távon felhasználhatóvá tettem.

4.4. Mikotoxin bontási kísérlet

Ahogy az Anyag és módszer 3.5 fejezetében bemutattam, az identifikált törzsek mikotoxin bontó képességét egy kétlépcsős kísérlettel vizsgáltam. A bitoxin kísérletben törzsek bontóképességét a zearalenon (ZEA) és az aflatoxin-B1 (AFB1) molekulákra párhuzamosan szkrínéltem. Az eredmények alapján a leghatékonyabb törzsek bontóképességét a továbbiakban monotoxin rendszerrel, azaz a két toxin külön-külön kivitelezett kísérletes vizsgálatával teszteltem.

4.4.1. Bitoxin bontási kísérlet

A bitoxin degradációs kísérlet célja az volt, hogy *Streptomyces* törzsek bontási képességét teszteljem. Erre a célra a törzsgyűjtemény faji szinten azonosított *Streptomyces* törzsei közül 123 darabot választottam ki, mindegyik identifikált fajból egyet-egyed. A *St. rimosus* fajból két fajreprezentánst vontam be, mivel már irodalmi adatokból is ismert volt e faj hatékony toxinbontó képessége (EL-SHARKAWY és ABUL-HAJJ 1988), így vizsgáltam összesen 124 törzset. *Streptomyces* törzseket már korábban is vizsgáltak mikotoxikózis megelőzésére, de ezekben a tanulmányokban főleg a toxintermelő gombák gátlására fókuszáltak (pl. YEKKOUR et al. 2012), és nem szerepeltek a biológiai hatást tesztelő módszerek, vagyis a biodetoxifikáció vizsgálata. Napjaink új módszere a biodetoxifikációs hatások mérése bioaktív tesztekkel (KRIFATON et al., 2011; KRIFATON et al., 2013; CSERHÁTI et al., 2013), melyeket vizsgálataimban is felhasználtam. Tanulmányomban az AFB1 genotoxikus hatását SOS-Chromotesttel, a ZEA hormonhatását BLYES-tesztel vizsgáltam az 3.5.2.1. fejezetben leírt módon.

Az SOS-Chromoteszt és a BLYES-teszt vizsgálatok eredménye alapján számos törzs mutatkozott hatékonynak az AFB1 és a ZEA bontásának tekintetében (MELLÉKLET 5.). Az SOS-Chromoteszt indukciós faktorának 1,5-nél kisebb értékei az AFB1 toxicitásának megszűnését jelezték. A ZEA ösztrogén hatásából következő biolumineszcencia intenzifikációt (BI%) BLYES-tesztrel mértem, ahol a biolumineszcencia intenzifikációs értékek csökkenése az ösztrogén hatás csökkenését illetve megszűnését jelentette (a kontroll-lal összevetett legalacsonyabb értékek). Az ösztrogén hatás megszűnését igazoló ellenőrző mérés, vagyis a BLYR-teszt a citotoxikus hatás kimutatására szolgált, melyet biolumineszcencia gátlási százalékban (BG%) fejez ki. Ez utóbbi érték esetében a vizsgált törzsek kismértékű, ám elhanyagolható intenzifikációt mutattak, viszont egyik esetben sem mértem fénykibocsátás gátlást, vagyis a módszer alapján citotoxikus hatásuk nem volt detektálható. Az előkísérletet követően azt a tíz *Streptomyces* törzset választottam ki a további monotoxin bontási kísérletekhez, amelyek a bitoxin kísérlet eredményei alapján, keverékben, mindkét mikotoxint hatékonyan bontották, valamint a biológiai hatást is megszüntették (4.1. táblázat és MELLÉKLET 5.).

4.1. táblázat. A tíz leghatékonyabb *Streptomyces* törzs SOS-Chromoteszt indukciós faktor értéke (IF) és a BLYES-teszt során kapott intenzifikációs százalék (BI%) értékei a bitoxin kísérlet során. A BLYR-teszt esetében feltüntettem, hogy mely törzseknél tapasztalható biolumineszcencia gátlás (BG%).

Törzs jele	Faj neve	SOS-Chromoteszt (IF)	BLYES-teszt (BI%)	BLYR-teszt (BG%)
K145	<i>St. rimosus</i>	1,16	-3,63	-36,55
K234	<i>St. cacaoi subsp. asoensis</i>	0,81	3,09	-42,72
K128	<i>St. spiroverticillatus</i>	1,18	4,00	-31,13
K136	<i>St. violaceoruber</i>	1,06	13,83	-37,09
K144	<i>St. luteogriseus</i>	1,20	14,09	-29,70
K189	<i>St. rimosus</i>	1,09	15,16	-32,22
K139	<i>St. sanglieri</i>	1,18	21,16	-44,20
K236	<i>St. cinereoruber</i>	1,24	22,43	-33,72
K129	<i>St. violarius</i>	1,06	22,57	-40,42
K116	<i>St. baarnensis</i>	1,08	24,14	-52,05
Kontroll		2,38	760,14	-9,57

4.4.2. Monotoxin bontási kísérlet

A bitoxin kísérletben megvizsgált törzsek közül tehát kiválasztottam a tíz leghatékonyabban bontó *Streptomyces* törzset. Ezt követően AFB1-re és ZEA-ra vonatkozóan külön-külön beállításban is elvégeztem a bontási kísérleteket, melyeket újra a fent említett biodetoxifikációs tesztekkel (SOS-Chromoteszt és BLYES-teszt) ellenőriztem. A biodegradációs hatékonyságot ezt követően már ELISA-tesztrel is vizsgáltam, háromszoros ismétlésben először egy-egy mintával, de a leghatékonyabban bontó törzseknél a másik két párhuzamost is elemeztem

(ELISA-val). A degradáció igazolása érdekében a hatékonyabban bontó törzsek esetében a pelletfrakcióra is alkalmaztam a fenti vizsgálatokat, szintén háromszoros ismétlésben.

4.4.2.1. Az AFB1 koncentrációjának elemzése ELISA-teszttel és SOS-Chromoteszttel a bontási kísérletet követően

A bontási kísérletet követően a rendszerben maradt AFB1 toxin maradék koncentrációját ELISA-teszttel, biológiai hatásának meglétét pedig SOS-Chromoteszttel ellenőriztem. ELISA-teszt alapján két törzs 5% alatti (*St. spiroverticillatus* K128 és *St. violaceoruber* K136), öt törzs 50-70% közötti (*St. baarnensis* K116, *St. violarius* K129, *St. cinereoruber* K236, *St. sanglieri* K139, *St. rimosus* K189), és három törzs 70% feletti (*St. rimosus* K145, *St. luteogriseus* K144, *St. cacaoi subsp. asoensis* K234) bontási képességet mutatott (4.2. táblázat). A *Streptomyces cacaoi* fajról korábban is kimutatták, hogy hatékonyan képes bontani dinitro-benzint, amely az AFB1-hez hasonlóan aromás szerkezetű (DEY et al., 1986). A kontroll minták átlagos indukciós faktor értéke 2,25 volt (ez az 1 µg/ml koncentrációhoz tartozó, bontás nélküli értéknek feleltethető meg), ami igazolta, hogy a törzsek nélkül magas genotoxicitást lehetett mérni az AFB1 bontás elmaradása miatt (4.2. táblázat).

A bitoxin kísérletben mind a tíz törzs megszüntette a genotoxicitást, a monotoxin kísérletben azonban csak a *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 törzs mutatott 1,5-nél alacsonyabb indukciós faktor értéket. Feltételezhető, hogy a bitoxin kísérletben jelen lévő kétféle toxin ellen termelt enzimek kiegészítették egymást, többféle reakciótat megnyitva, melynek következtében az AFB1 ellen is hatékony volt a bontás. Monotoxin kísérlet esetében ez az indukáló hatás elmaradhatott. További lehetséges magyarázat lehet még, hogy a bitoxin kísérletben közvetlenül a mikotoxin molekulák vagy azok bomlástermékei léptek kölcsönhatásba egymással, melynek következtében az AFB1 genotoxikus hatása gyengülhetett (TAJIMA et al., 2002).

A vizsgált *Streptomyces* törzseknél a kontrollhoz képest általában alacsonyabb genotoxicitást mértem, kivéve a *St. baarnensis* K116, és a *St. spiroverticillatus* K128 törzsek esetében. A *St. luteogriseus* K144, és a *St. rimosus* K145 törzseknél ugyan az ELISA-teszt eredményei alapján ~80%-os bontást tapasztaltunk, de az SOS-Chromoteszt szerint a toxicitás nem szűnt meg, mivel az indukciós faktor 1,5 feletti értéket mutatott. A kontrollnál magasabb genotoxikus értékek és a magas bontási százalék ellenére fennmaradó genotoxikus hatás arra utalhat, hogy a rendszerben káros másodlagos anyagcseretermékek maradhattak a bontást követően (MISHRA és DAS, 2003). Ez az eredmény azt bizonyítja, hogy fontos a degradációt követően a biológiai hatást is mérni, mert a bontás (a vizsgált toxin degradációja) még nem feltétlenül jelenti a toxikus hatás megszűnését. Az SOS-Chromoteszt eredményei alapján kizárólag a *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 tudta teljesen megszüntetni a genotoxicitást (4.2. táblázat), amelynek hatékony

toxinbontását (88,34%) az ELISA-teszt is bizonyította (4.2. táblázat). A Szent István Egyetem Környezetbiztonsági és Környezettoxikológiai Tanszékén folyó korábbi kutatások eredményei alapján hasonlóan magas biodegradációs értéket és a genotoxikus hatás megszűnését mutatták ki egyes *Rhodococcus* törzseknél (CSERHÁTI et al., 2013; KRIFATON et al., 2011).

4.2. táblázat. Az SOS-Chromoteszt indukciós faktor értéke (átlag \pm szórás, n=3), és az ELISA-teszt alapján igazolt AFB1 koncentráció és bontási százalék a monotoxin AFB1 bontási rendszerében (felülúszó frakcióból).

Törzsek	Fajok	SOS Chromo teszt (IF)	ELISA AFB1 (mg/L)	ELISA AFB1 (degradációs %)
K234^Δ	<i>St. cacaoi subsp. asoensis</i>	1,37 \pm 0,26	0,132 \pm 0,177	88,34 \pm 15,62
K144	<i>St. luteogriseus</i>	1,76 \pm 0,25	0,337	79,93
K145	<i>St. rimosus</i>	1,83 \pm 0,07	0,337	79,93
K189	<i>St. rimosus</i>	2,14 \pm 0,08	0,455	68,13
K139	<i>St. sanglieri</i>	2,20 \pm 0,04	0,522	61,43
K236	<i>St. cinereoruber</i>	2,04 \pm 0,14	0,551	58,52
K129	<i>St. violarius</i>	2,23 \pm 0,31	0,613	52,33
K116	<i>St. baarnensis</i>	2,34 \pm 0,06	0,627	50,90
K136	<i>St. violaceoruber</i>	1,86 \pm 0,35	1,088	4,79
K128	<i>St. spiroverticillatus</i>	2,30 \pm 0,32	1,120	1,60
kontroll^Δ		2,25 \pm 0,18	1,136 \pm 0,129	0,00

^ΔAz ELISA-teszt mérést három ismétléssel végeztem el (átlag \pm szórás, n=3).

4.4.2.2. A ZEA koncentrációjának elemzése ELISA-teszttel és BLYES-teszttel a bontási kísérletet követően

A bitoxin kísérletek alapján kiválasztott 10 törzs ZEA detoxifikációs képességét ismét BLYES-teszt módszer alkalmazásával mértem. A bontott minták maradék ösztrogén hatását a kontrollhoz viszonyított biolumineszcencia intenzifikáció százalékával (BI%) fejeztem ki (4.3. táblázat). A BLYR tesztszervezettel elvégzett kontroll vizsgálatok azt mutatták, hogy mind a 10 törzs esetében a kontrollhoz viszonyított szignifáns biolumineszcencia gátlás (BG%) nem volt mérhető (4.3. táblázat), ami azt jelenti, hogy a biodetoxifikációt jelző tesztszervezetre citotoxikus hatást nem mutatott egyik esetben sem. A BLYES-teszt által detektált ösztrogén hatás csökkenése tehát valós, vagyis a vizsgált *Streptomyces* törzsek hozzáadásának eredménye. A bontás során meglévő ZEA maradék koncentrációjának analitikai mérését ez esetben is ELISA-teszt módszerrel végeztem el. A tíz törzsből a *St. violarius* K129 jelzésű törzs 50% alatti, hat törzs a *St. cinereoruber* K236, a *St. sanglieri* K139, a *St. baarnensis* K116, a *St. violaceoruber* K136, a *St. luteogriseus* K144 és a *St. spiroverticillatus* K128 50-80% közötti, és három törzs, a *St. cacaoi subsp. asoensis* K234, illetve a *St. rimosus* K145 és K189 80% feletti toxinbontást mutatott az ELISA-teszt alapján.

4.3. táblázat. A BLYES-teszt biolumineszcencia intenzifikációs százaléka (átlag \pm szórás, n=3) és az ELISA-teszt alapján igazolt ZEA koncentráció és bontási százalék a monotoxin ZEA bontási rendszerében (felülúszó frakcióból). BLYR-teszt esetében biolumineszcencia gátlásról (BG%) beszélünk, mivel ez a kontrollhoz viszonyított érték gátlási %-ban kifejezve.

Törzs	Faj	BLYR (BG%)	BLYES (BI%)	ELISA ZEA (mg/L)	ELISA ZEA (degradációs %)
K145^Δ	<i>St. rimosus</i>	3,41\pm2,46	-29,72 \pm 5,27*	0,0035 \pm 0,0017	99,62 \pm 0,18
K189^Δ	<i>St. rimosus</i>	2,32 \pm 2,39	-30,14 \pm 7,36*	0,0033 \pm 0,0022	99,64 \pm 0,23
K234^Δ	<i>St. cacaoi subsp. asoensis</i>	-1,85 \pm 8,56	307,61\pm 142,99*	0,1125 \pm 0,0619	87,85 \pm 6,68
K128	<i>St. spiroverticillatus</i>	-21,76 \pm 4,92	687,74 \pm 119,49	0,2245	76,01
K144	<i>St. luteogriseus</i>	-20,65 \pm 5,11	665,16 \pm 25,44	0,2555	72,70
K136	<i>St. violaceoruber</i>	-14,96 \pm 4,41	553,46 \pm 71,52	0,3965	57,64
K116	<i>St. baarnensis</i>	-20,60 \pm 2,07	710,67 \pm 31,50	0,4200	55,13
K139	<i>St. sanglieri</i>	-11,94 \pm 1,54	478,35 \pm 41,85	0,4330	53,74
K236	<i>St. cinereoruber</i>	-30,92 \pm 2,00	708,22 \pm 62,17	0,4555	50,84
K129	<i>St. violarus</i>	-17,95 \pm 2,45	610,42 \pm 23,26	0,6040	35,47
kontroll^Δ		-21,69 \pm 1,39	610,27 \pm 61,49	0,9265 \pm 0,0602	0,00

^ΔAz ELISA-teszt mérést három ismétléssel végeztem el (átlag \pm szórás, n=3).

*Szignifikáns eltérések a kontroll rendszertől (egy-utas ANOVA, $F_{10,22}=49.46$; $p < 0.001$).

A BLYES-teszt csak három törzsnél mutatta a hormonhatás megszűnését. Annak ellenére, hogy az ELISA-teszt eredmények alapján a *St. spiroverticillatus* K128, és a *St. luteogriseus* K144 törzsek esetében több mint 70%-os bontási százalékot mértem (4.3. táblázat), a kísérlet végére megmaradt az ösztrogénhatás. A *St. baarnensis* K116, illetve a *St. spiroverticillatus* K128 törzseknél is magas bontási százalékokat tapasztaltam, de a maradék ösztrogénhatás itt még a kontrollnál is magasabb volt. Ezek az esetek ismételtén azt bizonyítják, hogy a bontási százalék alapján kimutatott degradáció vizsgálata nem elég ahhoz, hogy a toxicitás megszűnését megállapítsam.

A biodetoxifikációs vizsgálatok alapján öt törzs a *St. violaceoruber* K136, a *St. sanglieri* K139, a *St. rimosus* K145 és K189, a *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 átlagos biolumineszcencia intenzifikációja alacsonyabb volt, mint a kontroll minták értékei (~610 BI%). Ezekből két törzs esetében *St. violaceoruber* K136 és *St. sanglieri* K139 a kontrollnál alacsonyabb átlagos értékeket mértem, de ezek nem voltak szignifikánsak. A *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 törzs intenzifikációs százaléka fele akkora volt, mint a kontroll értéké. A legkisebb BI% értékeket (~ -30%) a *St. rimosus* K145 és K189 törzseknél tapasztaltam. E két törzs esetében volt a legmagasabb (~99,6%) a bontási százalék is.

Az AFB₁ bontásánál tapasztaltakhoz hasonlóan ennél a monotoxin kísérletnél is azt tapasztaltam, hogy a bitoxin kísérlethez képest kevesebb *Streptomyces* törzs volt hatékony a

hormonhatás megszüntetésében. A ZEA bontásánál is lehetséges, hogy a bitoxin kísérletben a két toxin által aktivált enzimek egymás hatását kiegészítve hatékonyabb bontást tettek lehetővé vagy a toxinmolekulák kölcsönhatásba lépve gyengítették egymás genotoxikus vagy hormonhatását.

Összehasonlítva az irodalmi adatokat a saját eredményeimmel az tapasztalható, hogy a *St. rimosus* K145 és K189 törzsek esetében mért bontási százalékok nagyobb mértékűek voltak, mint amit az *Aspergillus niger* FS10 törzs esetében (SUN et al., 2014), vagy amit *Rhodococcus* törzsek esetében mértek (CSERHÁTI et al., 2013), de hasonló értéket mutatott ki KRIFATON et al., (2013) más *Rhodococcus* törzsekkel. Hasonlóan magas bontási százalékot mutatott ki MEGHARAJ et al. (1997) egy *Pseudomonas fluorescens* törzs esetében, de ez utóbbi tanulmány nem tartalmazott bioaktív hatás detektálására vonatkozó tesztek.

4.4.2.3. Pelletvizsgálat

Az ELISA-teszt mérést a hatékonyan bontó (70% feletti toxinbontást mutató) törzsek (*St. spiroverticillatus* K128, *St. luteogriseus* K144, *St. rimosus* K145 és K189, *St. cacaoi subsp. asoensis* K234) pellet frakciójával háromszoros ismétlésben alkalmaztam. A három vizsgált törzs közül az AFB1 molekula megkötődése nem haladta meg a 30%-ot (4.3. táblázat).

A vizsgálatok alapján a *St. rimosus* K145 törzs kb. 20%-ban kötötte meg az AFB1 molekulákat a sejt felszínén. Ugyan a törzshöz tartozó ELISA-teszt esetében mért közel 80%-os bontási együttható (4.2. táblázat) kiemelkedőnek mondható, de ez részben annak tudható be, hogy a toxinmolekulák megkötődtek a sejtfelszínén. Az AFB1 bontási kísérletben szereplő törzsek pelleteinek felületén a legalacsonyabb toxin koncentrációt (átlagosan 0,05 ppm) a leghatékonyabban bontó törzsnél, a *St. cacaoi subsp. asoensis*-nél K234 mutattam ki, (~5%), vagyis a 88%-os AFB1 koncentráció csökkenése nem adszorpció révén következett be, hanem a tényleges bontás eredménye. Az SOS-Chromoteszt ennél a törzsnél a toxikus hatás megszűnését jelezte, ami a pellett vizsgálatokkal kiegészítve szintén azt bizonyítja, hogy a toxinmolekulák koncentráció csökkenése valóban biodegradáció, bontás útján létrejött biodetoxifikáció.

A ZEA sejtfelületen való megkötődését vizsgálva, egyik vizsgált törzs sem mutatott 12,7%-nál nagyobb ZEA toxin adszorpciót. A ZEA molekulákat a *St. luteogriseus* K144 törzs kötötte meg legnagyobb mértékben, megközelítőleg 10% körül, ami a törzs magas bontási potenciálját (72,7%) csak kismértékben befolyásolja. Nem észleltem azonban ZEA megkötést a két leghatékonyabban bontó és ösztrogénhatást megszüntető törzs esetében (*St. rimosus* K145 és

K189), ami igazolja, hogy a törzsek hatékonyan végezték el a ZEA biodegradációját és biodetoxifikációját is.

4.4. táblázat. A leghatékonyabban bontó *Streptomyces* törzsek pelletvizsgálatainak eredményei AFB1-re és ZEA-ra vonatkozóan. A két mikotoxin pelletről származó mennyiségének ELISA-teszt mérésével kapott értékeit mg/L-ben, valamint az 1 mg/L-re vonatkozó adszorpciós százalékban fejeztem ki (átlag \pm szórás, n=3). (Mindkét toxin esetében a 75% feletti bontási hatékonyságú törzseket választottam ki, amely a ZEA esetében öt, az AFB1 esetében pedig három törzset jelent.)

Törzsek	Fajok	ELISA		ELISA ZEA pellet (mg/L)	ELISA ZEA pellet adszorpciós %
		ELISA AFB1 pellet (mg/L)	AFB1 pellet adszorpciós %		
K128	<i>St. spiroverticillatus</i>	N/A	N/A	0,0862 \pm 0,0367	8,6 \pm 3,7
K144	<i>St. luteogriseus</i>	0,1461 \pm 0,0737	14,6 \pm 7,4	0,1074 \pm 0,0199	10,7 \pm 2,0
K145	<i>St. rimosus</i>	0,2214 \pm 0,0787	22,1 \pm 7,9	0,0000 \pm 0,0000	0,0 \pm 0,0
K189	<i>St. rimosus</i>	N/A	N/A	0,0000 \pm 0,0000	0,0 \pm 0,0
K234	<i>St. cacaoi subsp. asoensis</i>	0,0508 \pm 0,0568	5,1 \pm 5,7	0,0648 \pm 0,0307	6,5 \pm 3,1

A pellet elemzés eredménye szerint a sejtfalakon elhanyagolható volt a ZEA molekulák megkötődése. Ezt az eredményt megerősítik az éles gőzzel (autoklávban), hőkezeléssel előlt sejtekkel végzett vizsgálat sorozatok is. A kontroll és az előlt sejteket tartalmazó rendszer hasonló mértékű hormonhatása azt mutatja, hogy a vizsgált törzsek sejtfa nem képes megkötni ZEA molekulákat. A vizsgálatba vont törzsek (kivéve a *St. cacaoi subsp. asoensis* K234-es törzset) hasonló BI% értékeket mutattak a kontroll rendszerhez képest (4.5. táblázat), ami megerősíti, hogy az előlt sejteknél nem volt sejtfaon történő toxinmegkötődés. A *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 törzs esetében azonban a biolumineszcencia intenzifikációs értékek átlaga a kontroll értékek átlagának közel 60%-át tették ki, tehát a *St. cacaoi subsp. asoensis* K234-es törzsnél történő hormonhatás csökkenés jelentős részben a ZEA sejtfa felszíni megkötődésnek tudható be (4.5. táblázat).

4.5. táblázat. Az autoklávozott (éles gőzzel előlt) sejtek felülúszó mintáinak BLYES-teszttel kapott biolumineszcencia intenzifikációs százalék (BI%) értékei (átlag \pm szórás, n=3).

Törzs	Faj	BI%
K234	<i>St. cacaoi subsp. asoensis</i>	435,9 \pm 36,6
K144	<i>St. luteogriseus</i>	638,2 \pm 35,3
K145	<i>St. rimosus</i>	693,4 \pm 103,6
K189	<i>St. rimosus</i>	729,0 \pm 15,4
K128	<i>St. spiroverticillatus</i>	770,7 \pm 72,0
Kontroll		702,3 \pm 55,6

4.4.3. A két detoxifikációs módszer eredményeinek összevetése

A bitoxin kísérlet esetében 124 törzs, a monotoxin kísérlet esetében csak 10 törzs eredményét vettem össze. A bitoxin kísérlet esetében gyenge ($r=0,38$), de szignifikáns ($r \ll 0,05$) korrelációt kaptam (4.6. táblázat). A monotoxin kísérletnél azonban nagyobb volt a korrelációs koefficiens értéke ($r=0,50$), de ez nem volt szignifikáns ($r=0,14$). A két detoxifikációs tulajdonság tehát, főleg a bitoxin kísérletnél, korrelál egymással, vagyis ha egy törzs megszüntette az egyik mikotoxin hatását, legtöbbször a másik toxin hatását is megszüntette. Vagy ha nem volt hatással az AFB1-re, akkor ZEA-ra sem. Ez az eredmény megerősíti azt a feltételezést, miszerint egy bitoxin rendszerben a két toxin jelenléte befolyásolhatja a detoxifikációs hatásokat, vagyis akár a két toxin jelenléte fokozhatja az enzimek hatékonyságát, vagy egymás toxikusságát csökkenthetik.

4.6. táblázat A két antimikrobiális hatásra vonatkozó kísérlet Spearman-féle korrelációs elemzés eredményei.

Kísérlet	változó ₁	változó ₂	r	p	n
bitoxin	SOS-Chromo [IF]	BLYES [BI%]	0,38	1,38E-05	124
monotoxin	SOS-Chromo [IF]	BLYES [BI%]	0,50	0,1425	10

Új tudományos eredmények:

(2. tézis) A *Streptomyces cacaoi subsp. asoensis* K234 törzs, az ELISA és SOS-Chromoteszt eredmények alapján, hatékonyan detoxifikálja az aflatoxin-B1 mikotoxint, genotoxikus hatását *in vitro* képes megszüntetni, ami a pelletvizsgálatokkal bizonyítottan nem a sejtfalon történő toxinmegkötődésnek tulajdonítható.

(3. tézis) Az általam vizsgált *Streptomyces rimosus* K145 és K189 törzsek ELISA és BLYES-tesztek alapján hatékonyan detoxifikálják a zearalenon mikotoxint, annak ösztrogénhatását *in vitro* képes megszüntetni, ami vizsgálatokkal bizonyítottan nem a sejtfalon történő toxinmegkötődésnek tulajdonítható.

4.5. Antimikrobiális hatás vizsgálatainak eredményei

Az eddig vizsgált 162 törzsből 50 mindkét módszert alapul véve egyik módszerrel sem mutatott gátló hatást a vizsgált mikroszervezetekkel szemben. 41 törzs kizárólag a baktériumok ellen bizonyult hatásosnak, 28 törzs kizárólag antifungális hatást mutatott, 43 törzs pedig mind a prokarióták, mind az eukarióták egyes fajai ellen mutatott bizonyos mértékű inhibitor hatást.

4.5.1. Keresztcsíkozásos teszt

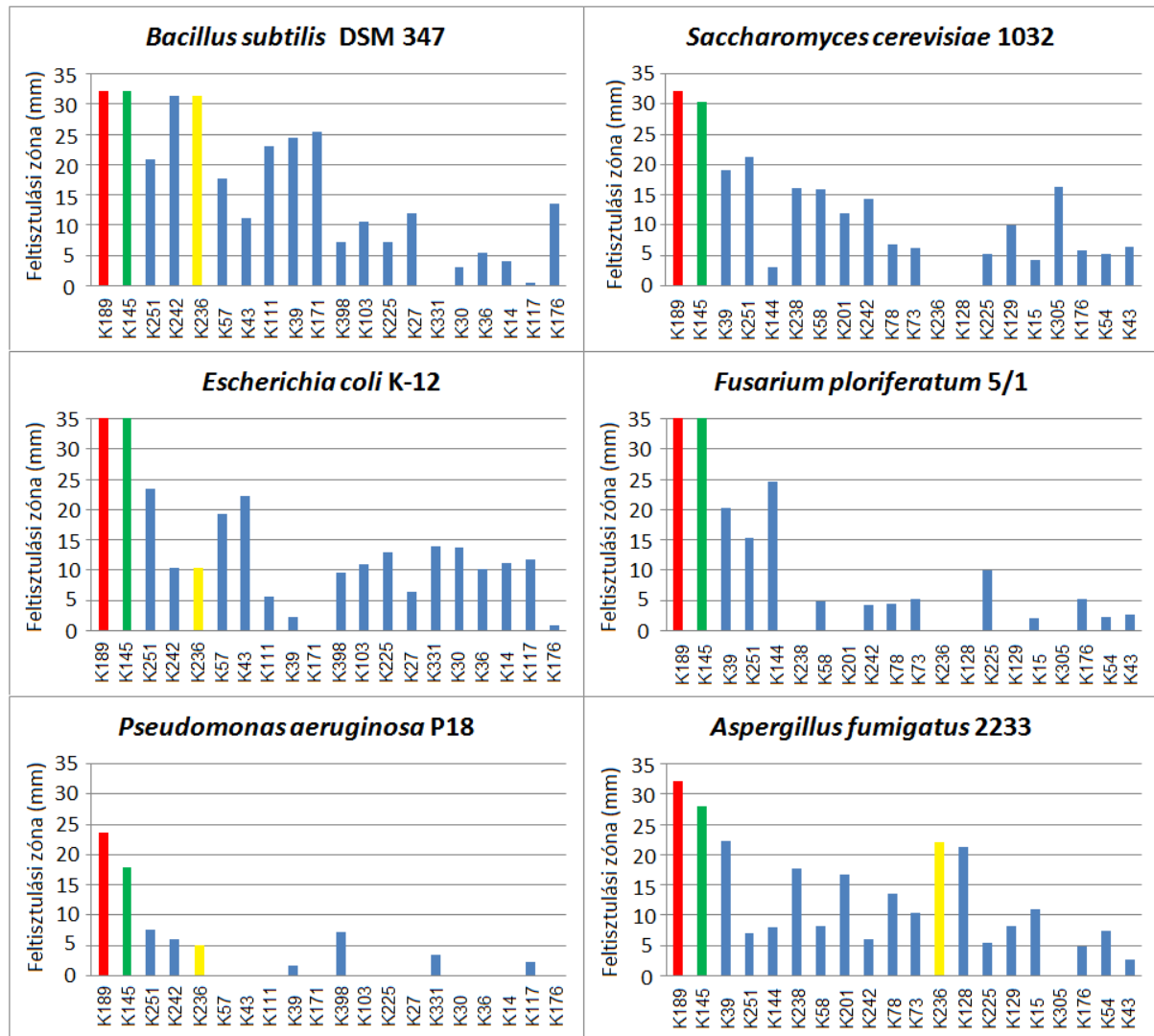
Keresztcsíkozásos teszt esetében a 160 vizsgált törzsből (további 2 törzs csak a lyuktesztben szerepelt) 57 törzs nem mutatott semmiféle antimikrobiális hatást. A 4.1. ábrán a hús legnagyobb feltisztulási zónával rendelkező, vagyis a gombák és a baktériumok elleni hús leghatékonyabb törzs átlagos gátlási zónájának mm-ben megadott hosszát ábrázoltam. A részletes eredményeket a MELLÉKLET 6. tartalmazza.

39 törzs mutatott kizárólag antibakteriális aktivitást. Ezek közül 6 törzs mind a három teszt baktérium faj növekedését gátolta, a többi 33 törzs csak egy, illetve két vizsgált baktérium faj ellen mutatott antibakteriális hatást. Utóbbiak közül kiemelném a *St. rangooensis* K103 és K111 törzseket, mert a faj antibakteriális hatására nincs irodalmi adat, pedig kísérleteimben gátolták a *Bacillus subtilis* DSM 347 és az *Escherichia coli* K12 növekedését is. A *St. turgidiscabies* fajt eddig, mint növényi patogént írták le (KOBAYASHI et al., 2015), a kísérletem azonban kimutatta, hogy az általam vizsgált *St. turgidiscabies* K36 jelű törzs hatékonyan képes fellépni a *Bacillus subtilis* DSM 347 és az *Escherichia coli* K12 ellen.

27 törzs mutatott kizárólag antifungális hatást, melyek közül nyolc törzs mind a három teszt gombafaj növekedését gátolta, 19 törzs pedig csak egy vagy két fajjal szemben mutatott antibiotikus hatást. A mindhárom gombafaj ellen fellépő *St. baliensis*-ről K73 még nincs a szakirodalomban fellelhető információ, amely beszámolna ennek a fajnak antifungális hatású vegyületeiről.

Összesen 37 törzs mutatott mindkét csoport (kiválasztott baktériumok és gombák) valamely tagja(i) ellen antimikrobiális hatást. Ezek közül kiemelném a *St. caniferus* K176 törzset, amely a *Pseudomonas aeruginosa* P18 kivételével az összes tesztorganizmus növekedését gátolta, az irodalom azonban csak gyenge antifungális hatást említ a fajról (PÉREZ et al., 2016). A 37 törzs közül 4 törzs mind a három baktériumfaj ellen fellépett, 10 törzs pedig mind a három gombafaj ellen volt aktív. Végül pedig 5 olyan törzs volt, amelyek mind a hat tesztorganizmus ellen antimikrobiális hatást fejtettek ki. Kimagasló antifungális és antibakteriális tulajdonságot mutattak a *St. rimosus* K145 és K189 törzsek, mivel ezek a törzsek az összes tesztorganizmus növekedését gátolták, és ezeknél a törzseknél mértem a legnagyobb gátlási zónákat (mm-ben). A

faj hatékony antimikrobiális képességét már korábban is igazolták (pl. FINLAY et al., 1950) (4.7. táblázat). Gátlási hatásuk különösen a *Pseudomonas aeruginosa* P18 baktériumnál emelkedik ki a többi *Streptomyces* törzs közül. A *P. aeruginosa* baktériumfaj törzseire ugyanis világszerte jellemző a multirezisztencia különböző antibiotikus szerekekkel szemben (3.6.1 fejezet). A *St. rimosus* K145 és K189 kiemelkedően hatékony gátló hatása különös figyelmet érdemelhet a klinikai gyakorlatban a *P. aeruginosa* elleni küzdelemben.



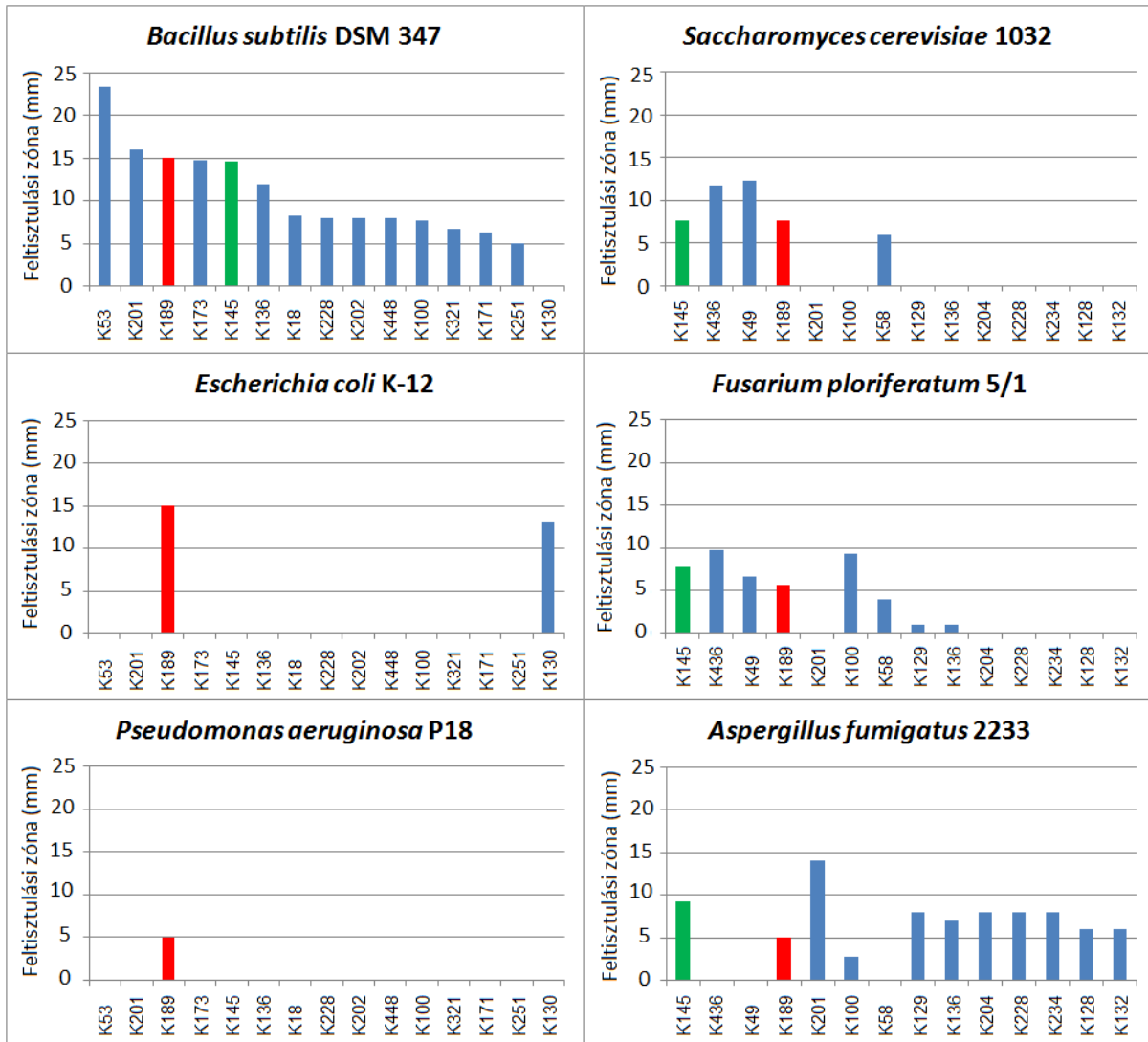
4.1. ábra. A *Streptomyces* törzsek által mutatott gátlási zóna mm-ben a keresztcsíkozásos tesztnél. A bal oldali oszlopdiaagramokban a három teszt baktériumfaj ellen leghatékonyabban fellépő 20 *Streptomyces* törzs, a jobb oldali oszlopdiaagramokban a három teszt gomba faj ellen leghatékonyabban fellépő 20 *Streptomyces* törzs szerepel. Zöld *Streptomyces rimosus* K145, piros *Streptomyces rimosus* K189 és sárga *Streptomyces cinereoruber* K236 színnel a három legeredményesebb antibiotikus hatású törzseket emeltem ki.

Az irodalmi adatok részben megegyeztek saját vizsgálataim eredményeivel, de bizonyos fajoknál a korábbi adatok szélesebb spektrumú antimikrobiális hatásról számoltak be, mint amit tapasztaltam pl. *St. luteoigriseus* K144 (GRABLEY et al., 1991).

4.5.2. Agardiffúziós lyukteszt

Az agardiffúziós lyuktesztnél 74 törzsből 40 törzs nem mutatott semmiféle antimikrobiális hatást. A vizsgálat eredményeit a keresztcsíkozásos tesztnél alkalmazott módszerrel ábrázoltam (4.2. ábra). 9 törzs gátolta kizárólag a baktériumok növekedését, de ezek a törzsek is csak egy-egy baktérium faj növekedését csökkentették. A baktériumok közül a *Bacillus subtilis* DSM 347 ellen termelt a legtöbb *Streptomyces* törzs (19 db) antibakteriális hatású anyagot, közülük is a leghatékonyabbnak a *St. flavogriseus* K53 törzs mutatkozott. A faj antimikrobiális hatását korábbi vizsgálatok is bizonyították (HAYASHI et al., 1982, ZI-HAN et al., 2003).

14 törzs kizárólag gombák ellen hatott, de ezek között olyan törzs nem volt, amely mind a három gombafajt gátolta volna növekedésében. 11 törzset találtam, amelyek mindkét csoport (a baktériumok és a gombák) tagjaira hatással voltak (MELLÉKLET 6.). Ezek közül a *St. rimosus* K145 törzs az összes gomba ellen gátló hatást mutatott. Az agardiffúziós teszt eredményei alapján kizárólag a *St. rimosus* K189 törzs gátolta az összes tesztorganizmus növekedését, és ez a törzs volt az egyetlen, amely a módszer alapján enyhe gátló hatást tudott gyakorolni a *P. aeruginosa*-ra P18.



4.2. ábra. A *Streptomyces* törzsek által mutatott gátlási zóna mm-ben az agardiffúziós lyuktesztnél. A bal oldali oszlopdiagrammokban a három teszt baktériumfaj ellen leghatékonyabban fellépő 15 *Streptomyces* törzs, a jobb oldali oszlopdiagrammokban pedig a három teszt gomba faj ellen leghatékonyabban fellépő 15 *Streptomyces* törzs szerepel. Piros *Streptomyces rimosus* K189 és zöld *Streptomyces rimosus* K145 színnel a két legszélesebb gátlási spektrumú törzset emeltem ki.

4.7. táblázat. A leghatékonyabb antimikrobiális hatású *Streptomyces* törzsek eredményeinek összevetése irodalmi adatokkal. Szürkével jelöltem azokat a törzseket, amelyek antimikrobiális képességéről a dolgozat elkészültéig nem jelent meg irodalmi adat vagy antimikrobiális hatása pontosan nem ismert.

Törzs	Faj	Kísérleti adat	Irodalmi adat
54	<i>St. albidoflavus</i>	gomba	
236	<i>St. albidoflavus</i>	baktérium	antifungális: Augustine et al., 2005, antimikrobiális: Roy et al 2006
242	<i>St. albidoflavus</i>	baktérium, gomba	
202	<i>St. albovinaceus</i>	baktérium	antibiotikum: Maehr & Evans 1987, antifungális: El-Sayed et al., 2000
15	<i>St. albus</i>	gomba	antimikrobiális: Miyazaki et al., 1974
27	<i>St. antibioticus</i>	baktérium	antibiotikum: Schimana et al., 2000, antifungális: Atta, 2010
57	<i>St. anulatus</i>	baktérium, gomba	antibiotikum: Gebhardt et al., 2002, antifungális: Usuki et al., 2008
73	<i>St. baliensis</i>	gomba	N/A
398	<i>St. bungoensis</i>	baktérium	antibiotikum: Cheng et al., 2013
234	<i>St. cacaoi</i>	baktérium, gomba	antimikrobiális: Ebata et al., 1975, antifungális: Chen et al., 2009
201	<i>St. caeruleatus</i>	baktérium, gomba	antimikrobiális: Zhu et al., 2011
176	<i>St. caniferus</i>	baktérium, gomba	antifungális(?): Pérez et al., 2016
14	<i>St. cavourensis</i>	baktérium, gomba	antibiotikum: Nakagawa et al., 1991, antifungális: Lee et al., 2012
39	<i>St. cellulosa</i>	baktérium, gomba	antimikrobiális: Harrison et al., 1986, Noguchi et al 1988
225	<i>St. cinnamomensis</i>	baktérium, gomba	antibiotikum: Pospisil et al., 1987, antifungális: Mohandas et al., 2013
204	<i>St. cirratus</i>	gomba	antibiotikum: Shiroza et al., 1982, antifungális: Debnath et al., 2013
305	<i>St. coelicoflavus</i>	baktérium, gomba	antibiotikum(?): Kalyani et al., 2014
53	<i>St. flavogriseus</i>	baktérium, gomba	antimikrobiális: pl. Hayashi et al 1982, Zi-han et al 2003
18	<i>St. fradiae</i>	baktérium	antibiotikum: Kadiri & Yarla 2016, antifungális: Singh & Rai 2013
100	<i>St. gibsonii</i>	baktérium, gomba	közvetett bizonyítékok: Chen et al., 2016, Shoman et al., 2003
132	<i>St. glomeroaurantiacus</i>	baktérium, gomba	N/A
49	<i>St. griseobrunneus</i>	gomba	antibiotikum: Balagurunathan & Subramanian, 1994, antifungális: Balagurunathan & Subramanian, 1998
448	<i>St. griseorubiginosus</i>	baktérium	antibiotikum: Ezaki et al., 1985 antifungális: Shimizu & Tamura 1981
107	<i>St. halstedii</i>	baktérium, gomba	antifungális: Joo 2005
130	<i>St. halstedii</i>	baktérium	antibiotikum: Hochstein & Murai 1954
436	<i>St. hydrogenans</i>	gomba	antifungális: Kaur et al., 2016
58	<i>St. laceyi</i>	gomba	antifungális: Park et al., 2007
173	<i>St. lateritius</i>	baktérium	antimikrobiális: Gilpin et al., 1988, Zhao et al., 2012
251	<i>St. lavendulae</i>	baktérium, gomba	antibiotikum: Balitz et al 1982, antifungális: Kunihiro & Kaneda 2003
171	<i>St. lincolnensis</i>	baktérium	antibiotikum: MacLeod et al., 1964
144	<i>St. luteogriseus</i>	gomba	antifungális: Jin-Yong & Ying-Jin 2005, antimikrobiális: Grabley et al., 1991
43	<i>St. microflavus</i>	baktérium, gomba	antimikrobiális: Ouhdouch et al., 2001
96	<i>St. minoensis</i>	baktérium, gomba	antibiotikum: Sun et al., 2016
238	<i>St. olivaceoviridis</i>	gomba	antifungális: Beyer & Diekmann 1985
103	<i>St. rangoonensis</i>	baktérium, gomba	N/A

Törzs	Faj	Kísérleti adat	Irodalmi adat
111	<i>St. rangoonensis</i>	baktérium	N/A
145	<i>St. rimosus</i>	baktérium, gomba	antimikrobiális: Finlay et al., 1950, antifungális: Waksman et al., 1952
189	<i>St. rimosus</i>	baktérium, gomba	antibiotikum: Matsumoto et al., 1999, antifungális: Sugita et al., 1982
45	<i>St. rishiriensis</i>	baktérium	antifungális: Jain & Jain 2007
78	<i>St. sampsonii</i>	gomba	antibiotikum: Höltzel et al 2003, antifungális: Debnath et al 2013
139	<i>St. sanglieri</i>	baktérium, gomba	antibiotikum: Jihani et al., 2012, antifungális: Chen et al., 2011
128	<i>St. spiroverticillatus</i>	baktérium, gomba	antimikrobiális: Johnson & Dietz, 1968
117	<i>St. tanashiensis</i>	baktérium	antibiotikum: Ding et al., 2013
30	<i>St. tauricus</i>	baktérium	növényi patogén: Kobayashi et al., 2015
36	<i>St. turgidiscabies</i>	baktérium	antibiotikum: Snipes et al 1979, antifungális: Rothrock & Gottlieb, 1981
136	<i>St. violaceoruber</i>	baktérium, gomba	antimikrobiális: Yoshimoto et al., 1979
129	<i>St. violarus</i>	baktérium, gomba	antibiotikum: Weitnauer et al., 2001
331	<i>St. viridochromogenes</i>	baktérium, gomba	antimikrobiális: El-Nasser et al., 2010
228	<i>St. viridodiastaticus</i>	baktérium, gomba	

4.5.3. A két antibiotikus hatást mérő módszer összevetése

A 162 vizsgált törzsből 50 törzs egyáltalán nem mutatott semmiféle antimikrobiális hatást egyik módszerrel sem, 112 törzs mutatott gátló hatást valamelyik vagy mindkét módszerrel. A 112 törzsből 78 törzs kizárólag a keresztcsikozásos tesztnél, 9 törzs kizárólag az agardiffúziós tesztnél és 16 törzs mindkét tesztnél kiváltott antimikrobiális hatást (4.8. táblázat). 9 *Streptomyces* törzs eredményesen lépett fel mindkét módszer alapján antimikrobiális hatást tekintetében mind a baktériumok mind pedig a gombák egyes képviselői ellen. Egyedül a *St. rimosus* K189 törzs fejtett ki mindkét módszer alapján hatékony antimikrobiális hatást az összes tesztorganizmus ellen.

4.8. táblázat. A gátlást nem mutató és a 112, antimikrobiális hatást mutató *Streptomyces* törzsek száma a két módszer (keresztcsikozásos teszt és agardiffúziós lyukteszt) és a kétféle tesztorganizmus (baktériumok vagy gombák) szerint csoportosítva.

Gátlást nem mutató törzsek száma	Gátló hatást kifejtett törzsek száma									
	Csak egyes baktérium	Csak az összes baktérium	Csak egyes gomba	Csak az összes gomba	Mindkettő, egyes	Mindkettő, összes baktérium	Mindkettő, összes gomba	Mindkettő, összes organizmus	Összesen gátlás	
Keresztcsikozásos	45	29	6	14	6	12	1	8	2	78
Agardiffúziós	28	4	0	3	0	2	0	0	0	9
Mindkét módszer	12	2	-	5	-	9*	-	-	-	16
Egyéb**	-	-	-	-	-	9*	-	-	-	9
Összesen		41		28			43			112

* Nincs külön bontva baktériumok és gombák szerint, mert a kétféle módszer szerint tovább kellene osztani a táblázatot.

** Az egyéb kategóriába tartozó törzsek eltérő viselkedést mutattak a kétféle módszer alapján, például az egyik tesztnél csak gombára, a másik tesztnél csak baktériumra tudtak hatást kifejteni.

A két antimikrobiális tesztben 60 közös törzs vett részt, így a korrelációs számításokba is ekkora elemszámot tudtam felhasználni. Az elemzés szerint nincsen összefüggés a két antimikrobiális teszt eredményei között (4.9. táblázat), tehát ha egy törzs az egyik teszt szerint hatékonyan lép fel a tesztorganizmusok ellen, a másik teszt szerint nem feltétlenül történik gátlás.

4.9. táblázat A két antimikrobiális módszer eredményeinek összevetése Spearman-korrelációs koefficienssel (r). A korrelációs értékeket külön számoltam mindegyik tesztorganizmus ellen mért gátlási zónák összegeként, illetve külön a baktériumok és a gombák csoportjára összegezve. Rövidítések: kereszt= keresztcsíkozásos teszt, lyuk= agardiffúziós teszt, n= az elemzésben részt vevő törzsek száma.

Tesztorganizmus	változó₁	változó₂	r	p	n
mind	kereszt [mm]	lyuk [mm]	-0.08	0.543	60
baktériumok	kereszt [mm]	lyuk [mm]	0.09	0.499	60
gombák	kereszt [mm]	lyuk [mm]	0.25	0.058*	60

*Ha a két leghatékonyabb (*Streptomyces rimosus* K145 és K189) törzs kiugró értékeit kivesszük az adatsorból, akkor a p érték még magasabb lesz.

A keresztcsíkozásos és az agardiffúziós eljárások az igazolt eredmények alapján tehát legtöbbször eltérnek egymástól. Az eltérés és a korreláció hiányának okai feltételezhetően a kétféle rendszer eltérő fizikai és kémiai tulajdonságainak tudhatók be. A keresztcsíkozásos teszteknel úgynevezett stacioner tenyészetek indukálódtak. A *Streptomyces* törzsek tenyészeteknek osztozniuk kell a tápközeg építőanyagain a tesztorganizmokkal a közös élettér miatt. A sejtek addig használják fel maximális sebességgel a rendelkezésre álló tápanyagokat, míg a tápanyaghiány elkezd korlátozni a szaporodásukat, miközben rohamosan szűkül az élettér is ezzel egy időben. Ez az úgynevezett stacioner vagy veszteglő fázis, melyben a sejtek csökkentik az anyagcseréjüket, és lebontják a nem életfontosságú sejtfehérjéket (KOLTER et al., 1993). A stacioner fázis gyakran az antimikrobiális anyag termelés fázisa is (GRAMAJO et al., 1993), átmenet a gyors növekedés állapotából a stresszre adott válaszállapotba, melynek során több micélium keletkezik, ennek hatására megnövekedik a másodlagos-anyagcserével és a tápanyagszállítással összefüggő gének aktivitása. Továbbá a legtöbb keresztcsíkozásos tenyészet már a spóráképző fázison is túlhaladt, és ilyenkor az antibiotikum termelés már magasabb szintű lehet (SCHAEFFER, 1969).

Ezzel ellentétben az agardiffúziós lyuktesztnél az ellenanyagot termelő szervezet nem, csak az elválasztott és szűrt formában létező másodlagos anyagcseretermék érintkezik a tesztorganizmussal. Ennek megfelelően a baktérium törzsek nem közvetlenül a tesztorganizmus jelenlétében termelték az esetleges antimikrobiális terméket, hanem a rázatás hatására történt ez meg. Rázatás alkalmával spóráképzés sem történik (légmicéliumok nem differenciálódnak, viszont a szubsztrát micéliumok gombolyaggá tekerceselődnek a körkörös mozgást követően, nincs vagy csak nehezen jön létre differenciálódás), ezért tehát az antimikrobiális anyagok

termelése vélhetően alacsonyabb mértékű, mint a keresztcsíkozásos tesztnél. Az agardiffúziós rendszerben tapasztalt antimikrobiális reakciókkal tehát azt tudtam ellenőrizni, hogy az adott *Streptomyces* törzs a tesztorganizmus jelenléte (indukáló stressz faktor) nélkül is képes-e olyan hatékony antimikrobiális anyagot termelni, amely gátolja az adott tesztorganizmus szaporodását, illetve növekedését.

4.6. Antimikrobiális hatás és a biodetoxifikációs vizsgálatok eredményeinek összevetése

A ZEA bontásban és detoxifikációban sikeres *St. rimosus* K145 törzs a keresztcsíkozásos módszerrel hatékony és széles spektrumú antimikrobiális hatást mutatott. A szintén ZEA bontásban kiemelkedő *St. rimosus* K189 törzs volt az egyetlen, amely mindkét módszerrel minden tesztorganizmus ellen gátló hatással bírt. Az AFB1 és ZEA bontásban és detoxifikációban hatékony *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 törzs azonban igen alacsony antimikrobiális hatást tudott kifejteni. A keresztcsíkozásos tesztnél minimálisan az antimikrobiális hatásnak megfelelően kifejezetten érzékeny *Bacillus subtilis* DSM 347 ellen, az agardiffúziós tesztnél pedig az *Aspergillus fumigatus* 2233 ellen igazolt kismértékű gátló hatást.

Láthattuk tehát, hogy a mikotoxinbontásban hatékony törzsek nem feltétlenül fejtenek ki antimikrobiális hatást. Továbbá számos törzsről kimutattam, hogy eredményesen lép fel a tesztbaktérium- és gombafajok ellen, viszont nem szüntették meg a biológiai hatást. Ezeket a megfigyeléseket alátámasztották a korrelációs számítások is (4.10. táblázat). A legtöbb esetben nem találtam korrelációt a detoxifikációs és az antimikrobiális tulajdonságok között. Gyakran találtam azonban olyan gyenge korrelációt, melyet a *St. rimosus* két hatékony antimikrobiális törzsének kiugró értékei okoztak, de ez nem bizonyítja az általános korrelációt a két tulajdonság között. Az egyetlen, nem a kiugró értékek miatt létrejövő erősen szignifikáns összefüggést a bitoxin kísérlet detoxifikációs eredményei és a keresztcsíkozásos módszer *Aspergillus fumigatus* 2233 tesztorganizmus ellen történő antimikrobiális hatás között mértem (4.10. táblázat). A gombáknál fellelhető korrelációt is az *Aspergillus fumigatus* értékei okozzák. Ennek értelmében egy adott törzs minél alacsonyabb genotoxikus- vagy hormonhatást okozott a bitoxin kísérletben, annál hosszabb gátlási zónát hozott létre a keresztcsíkozásos kísérletben az *Aspergillus* gomba ellen. Az *Aspergillus* ellen fellépő gátló hatás tehát összefügg a detoxifikációs tulajdonsággal a bitoxin rendszer eredményei alapján.

4.10. táblázat A detoxifikációs és antimikrobiális módszerek korrelációs összevetése. Külön láthatjuk a keresztcsíkozásos és az agardiffúziós lyukteszthez, valamint ezeken belül a bitoxin és monotoxin kísérlethez tartozó eredményeket. Külön vizsgáltam a baktériumok és gombák gátlási zóna összegeit. Rövidítések: kereszt= keresztcsíkozásos teszt, lyuk= agardiffúziós teszt, n= az elemzésben részt vevő törzsek száma.

Összevetés	Detoxifikációs vizsgálat	Antimikrobiális tesztorganizmus	változó ₁	változó ₂	r	p	n
Detoxifikáció és keresztcsíkozásos módszer	bitoxin	Baktériumok	SOS-Chromo [IF]	kereszt [mm]	-0.11	0.3144	92
		Baktériumok	BLYES [BI%]	kereszt [mm]	-0.16	0.1383	92
		Gombák	SOS-Chromo [IF]	kereszt [mm]	-0.287	0.0059**	92
		Gombák	BLYES [BI%]	kereszt [mm]	-0.361	0.0004**	92
		<i>Aspergillus</i>	SOS-Chromo [IF]	kereszt [mm]	-0.36	0.0004**	92
		<i>Aspergillus</i>	BLYES [BI%]	kereszt [mm]	-0.51	0.0000002**	92
	monotoxin	Baktériumok	SOS-Chromo [IF]	kereszt [mm]	0.45	0.2298	9
		Baktériumok	BLYES [BI%]	kereszt [mm]	-0.59	0.0916	9
		Gombák	SOS-Chromo [IF]	kereszt [mm]	0.07	0.8801	9
		Gombák	BLYES [BI%]	kereszt [mm]	-0.13	0.7476	9
Detoxifikáció és agardiffúziós lyukteszt módszer	bitoxin	Baktériumok	SOS-Chromo [IF]	lyuk [mm]	-0.28	0.0297*	60
		<i>Bacillus</i>	SOS-Chromo [IF]	lyuk [mm]	-0.26	0.0461*	60
		Baktériumok	BLYES [BI%]	lyuk [mm]	-0.05	0.7169	60
		Gombák	SOS-Chromo [IF]	lyuk [mm]	0.07	0.5862	60
		Gombák	BLYES [BI%]	lyuk [mm]	-0.23	0.0812	60
	monotoxin	Baktériumok	SOS-Chromo [IF]	lyuk [mm]	0.02	0.9628	9
		Baktériumok	BLYES [BI%]	lyuk [mm]	-0.65	0.0576	9
		Gombák	SOS-Chromo [IF]	lyuk [mm]	-0.04	0.9134	9
		Gombák	BLYES [BI%]	lyuk [mm]	-0.71	0.0322*	9

*A két hatékony törzs *Streptomyces rimosus* K145 és K189 eltávolításakor megszűnik a korreláció.

**A korreláció megmarad ($p < 0,05$) a kiugró értékek (K145 és K189) nélkül is.

Új tudományos eredmények:

(4. tézis) A *Streptomyces turgidiscabies* K36 törzs képes ellenanyagot termelni a *Bacillus subtilis* DSM 347 és az *Escherichia coli* K-12 baktériumfajok ellen, melyet korábbi irodalmi adatok nem igazoltak.

(5. tézis) A *Streptomyces baliensis* K73 törzs képes ellenanyagot termelni mindhárom vizsgált teszt gombafaj ellen (*Saccharomyces cerevisiae* 1032, *Fusarium ploriferatum* 5/1, *Aspergillus fumigatus* 2233), pedig korábban semmiféle antifungális hatást nem mutattak ki vele kapcsolatban.

(6. tézis) A *Streptomyces gibsonii* K100 a *Bacillus subtilis* DSM 347, a *Fusarium ploriferatum* 5/1, és az *Aspergillus fumigatus* 2233 tesztorganizmusok ellen; a *Streptomyces ragoonensis* K103 a *Bacillus subtilis* DSM 347, az *Escherichia coli* K-12, a *Saccharomyces cerevisiae* 1032, a *Fusarium ploriferatum* 5/1, és az *Aspergillus fumigatus* 2233 ellen; végül a *Streptomyces glomeroaurantiacus* K132 törzs a *Bacillus subtilis* DSM 347 és a *Fusarium ploriferatum* 5/1 tesztorganizmusok ellen antimikrobiális hatást fejtenek ki, melyekről eddig nem számolt be az irodalom.

(7. tézis) A *Streptomyces caniferus* K176 törzs antimikrobiális hatást fejt ki a *Bacillus subtilis* DSM 347 és az *Escherichia coli* K-12 tesztbaktérium fajok ellen, pedig eddig csak gombaellenes hatását mutatták ki.

(8. tézis) A *Streptomyces coelicoflavus* K305 törzs hatékonyan gátolja *Saccharomyces cerevisiae* 1032 élesztő törzset, pedig eddig csak antibakteriális hatását igazolták.

(9. tézis) A korrelációs számítások alapján megállapítható, hogy a *Streptomyces* törzsek detoxifikációs és antimikrobiális hatása között nincsen összefüggés. Egyetlen kivétel ezalól a vizsgált törzsek ZEA és AFB₁ együttes detoxifikációs tulajdonsága, valamint az *Aspergillus fumigatus* 2233 ellen történő gátló hatás pozitív korrelációja, melyet a bitoxin kísérlet adatai alapján bizonyítottam.

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

A *Streptomycetales* rendbe tartozó *Streptomyces* nemzetség eddig főleg antimikrobiális hatású szerek termeléséről ismert prokarióta (baktérium) csoport volt (WATVE et al., 2001, DE LIMA PROCOPIO et al., 2012). A környezeti elemekből mára már számos törzsüket azonosították és nagyrészt antimikrobiális tulajdonságaikat elemezték. A többnyire talajlakó és rendkívül változatos biokémiai tulajdonságokkal bíró csoport biodegradáció terén hasznosítható funkciói azonban még jórészt feltáratlanok maradtak. Vizsgálataimmal 380 *Streptomyces* törzs több fázisú elemzését végeztem el, melynek során genotipizáltam őket. A *Streptomyces* gyűjtemény 16S rDNS szekvenciái közül a dolgozatom elkészítésének időpontjában 287 db-ot a NCBI GenBank adatbázisban szabadon hozzáférhetővé tettem (azonosító kódok: MF860423-tól MF860709-ig). Megvizsgáltam a törzsek AFB1 és ZEA mikotoxinbontó és biodetoxifikációs képességét, valamint antimikrobiális hatását.

A két vizsgált mikotoxin a természetben gyakran együttesen fordul elő, ezért előzetesen egy bitoxin bontási kísérletet végeztem el. Ennek során kiszelektáltam tíz olyan *Streptomyces* törzset, melyek a toxinok együttes jelenléte esetében hatékonyan detoxifikálták az AFB1 és ZEA vegyületeket. A bontási és detoxifikációs képességet megerősítendő, ezeket a törzseket monotoxin bontási kísérletben is megvizsgáltam. Ennek során három törzs esetében igazoltam, hogy képesek a biológiai hatás megszüntetésére. A bitoxin kísérletnél pozitívan korrelált a két mikotoxinra vonatkozó detoxifikációs képesség, ezt azonban a monotoxin rendszerben már nem tapasztaltam. A két kísérlet eltérő eredményei feltételezhetően arra vezethetők vissza, hogy a mikotoxinok eltérő módon működhetnek egymás jelenlétében. A különböző mikotoxinok kölcsönhatásba lépve egymással erősíthetik, de akár gyengíthetik is a toxikus vagy hormonális hatásukat a koncentrációjuk függvényében (TAJIMA et al., 2002). Lehetséges indoklás lehet még, hogy a különböző toxinmolekulák hasonló metabolikus utakat aktiválhatnak a bontó baktérium enzimszisztémájában, ami serkentheti a bontást a többféle toxin jelenlétében. Ezt a feltételezést erősíti meg, hogy csak a bitoxin rendszerben találtam pozitív korrelációt a két mikotoxin detoxifikációs eredményei között. A bontásban szereplő enzimek és génexpressziójuk vizsgálata azonban túlmutat disszertációm célkitűzésein.

Mind az AFB1, mind a ZEA mikotoxin individuális bontásánál azt tapasztaltam, hogy több törzs volt képes degradálni a toxinok molekuláit, de a biológiai hatásvizsgáló módszerek alapján ezek közül csak néhány volt képes a toxinok káros (genotoxikus, illetve hormon-) hatását is megszüntetni, vagyis biodetoxifikálni azokat. A biotechnológiai felhasználáshoz azonban nem elég a molekula-szerkezet bontásának igazolása, mivel a reakciók során metabolitok

(bomlástermékek) keletkezhetnek, melyek akár az anyavegyületnél erősebb toxikus hatást is képesek előidézni (MISHRA és DAS, 2003). Kísérleteimben az AFB1 mikotoxint egyetlen törzs, a *St. cacaoi spp. asoensis* K234 volt képes nagy hatékonysággal bontani, illetve a biológiai hatást megszüntetni. Utóbb említett törzs átfedést mutatott a két mikotoxin bontási hatékonyságában, ugyanis a ZEA mikotoxin molekulát is kiemelkedő mértékben tudta *in vitro* eltávolítani, a hormonhatását azonban nem szüntette meg maradéktalanul. A ZEA bontásánál a *St. rimosus* faj K145 és K189 törzsei bizonyultak a leghatékonyabbnak, mivel a mikotoxin molekula nagymértékű bontása mellett a biológiai (ösztrogén) hatást is megszüntették.

A fentieknek megfelelően igazoltam, hogy a magas bontási hatékonyság mellett vizsgálni kell a rendszerben a bontás után visszamaradó mérgező anyagok által okozott genotoxikus és hormonhatás változásokat is. A biodegradációs folyamatok mellett tehát szükséges a biológiai hatások nyomon követése is (CSERHÁTI et al., 2013).

Számos *Streptomyces* törzset alkalmaznak a gyógyszeriparban nagymértékű antibiotikus hatásuk miatt (HASHIMOTO et al., 2011). További vizsgálataim ezen hatásuk elemzését célozták meg, és az eredmények alátámasztották, hogy sok sugárgomba törzs hatékonyan lép fel a különböző mikroba szervezetek ellen, illetve szaporodásukban gátolják azokat. Dolgozatomban két módszerrel, keresztcsíkozással és agardiffúziós lyukteszttel vizsgáltam a törzsek inhibíciós hatását. Ezekkel a mikrobiológiai tesztekkel több olyan törzset vontam kísérletbe, melyek antimikrobiális hatását már korábban is kimutatták, de elemzésre kerültek olyanok is, melyekről e képességet szakirodalom még nem említett.

Az antimikrobiális hatás kimutatására irányuló keresztcsíkozással és agardiffúziós kísérlet során összesen 41 törzs csak a baktériumok ellen, összesen 28 törzs csak a gombák ellen, és 43 törzs mindkét csoport ellen fellépett. Közülük is kimagasló eredménnyel a *St. rimosus* K145 és K189 jelű törzsei szerepeltek, melyek az összes vizsgált tesztorganizmust gátolták a növekedésben. Emellett kiemelném a *St. cinereoruber* K236, a *St. albidoflavus* K242 és a *St. lavendulae* K251 törzsek széles spektrumú antimikrobiális hatását.

Számos olyan fajt vizsgáltam azonban, amelyek antimikrobiális hatását az irodalmi adatok alapján korábban nem írták le. Ilyenek például a *St. turgidiscabies* K36 törzs és a *St. baliensis* K73 törzs, melyeknek baktérium- illetve gombafajok elleni hatását eddig nem mutatták ki. Eddig nem ismert módon, baktérium- és gomba tesztorganizmusok ellen is antibiotikus hatást igazoltak a *St. rangoonensis* K103 és K111, a *St. gibsonii* K100, a *St. glomeroaurantiacus* K132, a *St. caniferus* K176 és a *St. coelicoflavus* K305 törzsek.

A *Streptomyces* törzsek detoxifikációs és antimikrobiális tulajdonsága között ugyan nem volt kimutatható közvetlen összefüggés, a nemzetség antimikrobiális hatása azonban

megkérdőjelezheti a törzsek mikotoxinok elleni bioremediációs felhasználását, hiszen a *Streptomyces* baktériumok által a környezetben kifejtett gátló hatás humánegészségügyi- és környezetbiztonsági kérdéseket vethet fel. A két különböző vizsgálati cél (biodetoxifikáció és antimikrobiális hatás) összehasonlítható eredménye alapján a kiemelkedő AFB1 biodetoxifikáló *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 törzs a keresztcsíkozásos tesztnél minimálisan a *Bacillus subtilis* DSM 347 ellen, az agardiffúziós tesztnél pedig az *Aspergillus fumigatus* 2233 ellen fejtett ki enyhe gátló hatást. A fajnak azonban más irodalmi adatok alapján (EBATA et al., 1975; CHEN et al., 2009) hatékonyabb és szélesebb spektrumú antimikrobiális hatása van. Például gátló hatással volt egy antibiotikum rezisztens *Staphylococcus aureus* törzsrre (EBATA et al., 1975) is.

Emellett a ZEA-bontásban páratlan hatású *St. rimosus* K145 és K189 törzsek az antimikrobiális anyagok termelésében is kiemelkedtek. A tesztorganizmusként használt baktérium- és gombatörzsek mindegyike ellen ugyanis hatékonyan léptek fel, mindkét antimikrobiális vizsgálat eredményei alapján. A biodetoxifikációra igazoltan alkalmas *Streptomyces* törzsek *in vivo* felhasználása humánegészségügyi kockázattal járhat, így a következő lépés azon enzimek meghatározása és izolálása lehet, amelyek a mikotoxinok lebontásában bizonyítottan részt vesznek.

A biodegradációs tulajdonságok jövőbeni (bioremediációs) alkalmazása továbbra is az adott törzs antimikrobiális képességének is függvénye. Hiszen bármilyen jó degradációs képességgel rendelkezik is, egy széles spektrumú, hatékony antimikrobiális hatással rendelkező törzset kockázatos kijuttatni a környezetbe, mivel megbolygathatja a természetes mikrobiótát (DING és HE, 2010), illetve rezisztenciát indukálhat. Az antimikrobiális hatás és a rezisztencia terjesztés kockázatának csökkentése érdekében a baktérium törzsek *in vivo* felhasználása helyett javaslom az általuk termelt mikotoxin bontó enzimeket felhasználni. Az enzimeket nagy mennyiségben, fermentációs úton, laboratóriumi körülmények között lehet termeltetni, majd kivonni és tisztítani, végül célzottan felhasználni.

Javaslom a gyűjteményben szereplő törzsek fenntartását és azok biokémiai aktivitásának megőrzését annak érdekében, hogy el lehessen végezni a még hátra lévő biodegradációs és antimikrobiális kísérleteket. Ehhez elengedhetetlenül szükséges a tárolhatóság időtartamának és megfelelő körülményeinek meghatározása, illetve optimalizálása. Ezért javasolt táptalaj optimalizálási kísérletek elvégzése, a megfelelő szén- és nitrogéntartalom arányának, valamint a kedvező pH tartomány meghatározása.

A WHO jelentése alapján a többek között karbapenem rezisztens *Pseudomonas aeruginosa* a világ antibiotikum rezisztenciájának egyik legnagyobb ma ismert problémája. Ennek megelőzése és terjedése érdekében fontos lenne új antibiotikumok kifejlesztése. Az általam használt

Pseudomonas aeruginosa P18 törzs ugyan nem volt karbapenem rezisztens, de mivel a *St. rimosus* K145 és K189 törzsek gátló hatást fejtettek ki ellene, javaslom további kísérletek elvégzését karbapenem rezisztens környezeti, illetve klinikai *Pseudomonas aeruginosa* izolátumok felhasználásával.

A törzsek biotechnológiai célú alkalmazhatóságán belül olyan fermentációs eljárások kifejlesztését tartanám okszerűnek, amely a bontásért felelős enzimeket képes feltárni és felszaporítani, hogy az enzim(ek)et felhasználva előremozdíthassuk a mikotoxin mentesítési törekvéseket. Egy adott törzs hatékony enzimének más, antimikrobiális hatással nem bíró, genetikailag módosított baktériummal való termeltetése biztonságos megoldást jelenthet a mikotoxinok elleni fellépésre. A *Streptomyces*-ek esetében az antibiotikum termelés esetén használnak ilyen eljárásokat, így azok adaptálása enzimek kinyerésére is alkalmazható módszernek bizonyulhat. Mivel azonban a génmódosított szervezetek *in vivo* felhasználása csak korlátozott mértékben lehetséges, ezen szervezetek alkalmazását is csak enzimek termeltetéséhez javaslom.

Az enzimtermeltetés szempontjából további fontos információ egy baktérium törzsről, hogy a mikotoxin bontó tulajdonság a baktérium faji jellemzője-e, tehát eredeti DNS-ében kódolt, vagy az élőhelyén, akár plazmid útján szerzett tulajdonság. Az AFB1 és a ZEA bontásával kapcsolatban is kimutatták már, hogy a bontó enzimeik a vizsgált (nem *Streptomyces*) törzsek DNS-ében kódoltak (pl. AFB1: ZHAO et al., 2011; ZEA: YU et al., 2012, TAKASHI-ANDO et al., 2002). Egy *Pseudomonas* törzs esetében azonban már észlelték plazmidon kódolt enzimek ZEA bontását (ALTALHI, 2007). A fentiek azonban nem szolgáltatnak elegendő bizonyítékot arra, hogy a *Streptomyces* törzsek toxinbontó képessége a törzsek eredeti, DNS-ben kódolt tulajdonságai vagy az eredeti élőhelyükön végbement, plazmidhoz köthető génátvitel eredménye.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjaink egyik jelentős kihívása az antropogén eredetű kémiai és biológiai szennyezések megszüntetése a környezetben. A környezeti problémák orvoslására számos kármentesítési módszer létezik, többek között a bioremediáció, melynek során a szennyező anyagokat biológiai úton történő átalakítással, teljes vagy részleges bontással távolítják el. A baktériumok és mikroszkopikus gombák a leggyakoribb szereplői a bioremediációs eljárásoknak. A kockázatos anyagok bontásánál azt is fontos vizsgálni, hogy az anyag koncentráció csökkenése során megszűnjön annak mérgező hatása, hiszen sok esetben az ilyen anyagok bomlástermékei is toxikusak. Egyes baktériumtörzsek ugyan képesek valamilyen környezetre ártalmas toxikus anyag bontására, de nem feltétlenül alkalmazhatóak biodegradációs feladat ellátására, mivel például antimikrobiális anyagot termelhetnek. Doktori munkám során egy 494 tagból (főként *Streptomyces* nemzetségből) álló törzsgyűjtemény tagjaiból 407-et revitalizáltam és taxonómiaileg identifikáltam molekuláris biológiai módszerekkel. A dolgozatom elkészítésének időpontjában 287 db-ot a NCBI GenBank adatbázisban szabadon hozzáférhetővé tettem. A 123 *Streptomyces* fajból álló törzsgyűjtemény tagjai közül 124 darab törzs aflatoxin-B1 (AFB1) és zearalenon (ZEA) mikotoxin biodegradációs és biodetoxifikációs képességét vizsgáltam immunanalitikai és biológiai hatásmérő módszerekkel. Végül az identifikált törzsek antimikrobiális hatását ellenőriztem hat tesztorganizmussal (három baktérium- és három mikroszkopikus gombafajjal) szemben.

A fentiek mellett meghatároztam a *Streptomyces* törzsek hőmérséklet optimumát, illetve regisztráltam fenotípusos megjelenési formájukat (pl. a telep színe, felületi morfológiája, spóratermelés). Az esetleges növekedési formákról fotódokumentáció is készült. A megjelenési forma vizsgálatai alapján a legtöbb törzs növekedést mutatott a vizsgált hőmérsékleteken (24, 28 és 45°C-on), továbbá gyakran tapasztaltam pigmentképzést és spóratermelést.

A gyűjtemény tagjainak mikotoxin AFB1 és ZEA bontási képességét úgy vizsgáltam, hogy a bontást követően a toxikus molekulák koncentrációját ELISA-teszttel mértem, az esetlegesen fennmaradó hormon- illetve genotoxikus hatást pedig biológiai hatásmérő tesztekkel ellenőriztem. A magas bontási hatékonyság mellett ugyanis vizsgálni kell a rendszerben a bontás után visszamaradó mérgező anyagok által okozott genotoxikus hatásokat és ED hatások miatt bekövetkező változásokat is. A mikotoxin bontási kísérleteknél azt tapasztaltam, hogy több törzs volt képes degradálni a toxinok molekuláit, de a biológiai hatásvizsgáló módszerek alapján ezek közül csak néhány törzs volt képes a genotoxikus vagy hormonhatást is megszüntetni. A biodegradációs folyamatokat követően tehát feltétlenül szükséges a biológiai hatások nyomon

követése is. A 124 törzs vizsgálata alapján a K234 jelű *St. cacaoi subsp. asoensis* törzs bontotta hatékonyan az AFB1 mikotoxint, továbbá a biológiai hatásmérő teszt alapján a genotoxikus hatást is megszüntette. A ZEA-t a leghatékonyabban bontó törzsek közül a *St. rimosus* K145 és K189 jelű törzsek a ZEA mikotoxin hormonhatását is megszüntették. A kísérleteim során pelletvizsgálatokkal is igazoltam, hogy a toxinok koncentrációjának jelentős csökkenése háttérben valóban biodegradáció áll. Az elölt sejtekkel végzett kísérleteim alapján azonban megállapítottam, hogy a *St. cacaoi subsp. asoensis* K234-es törzsnél történő hormonhatás csökkenés jelentős részben a ZEA sejtfelszíni megkötődésnek tudható be.

A *Streptomyces* nemzetség számos képviselője képes hatékony antibiotikum származékokat előállítani. A törzsek antimikrobiális hatásának vizsgálatát keresztcsíkozásos teszttel és agardiffúziós lyukteszt módszerekkel végeztem el. A törzsgyűjtemény antimikrobiális hatást vizsgáló kísérlete számos törzsről bebizonyította, hogy gátló hatást fejtettek ki a teszt baktérium- és gomba fajokkal szemben. Számos *Streptomyces* fajról elsőként regisztráltam antimikrobiális hatást, melyről az irodalom nem tesz említést. A mikotoxin bontási kísérletekben hatékony ZEA-bontó *St. rimosus* K145 és K189 törzsek kiemelkedő antimikrobiális hatást mutattak. A hatékony ZEA és AFB1-bontó *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 törzs viszont alacsony gátló hatást fejtett ki a tesztorganizmusokkal szemben.

A *Streptomyces* törzsek antimikrobiális tulajdonsága megkérdőjelezheti a törzsek mikotoxinok elleni bioremediációban történő felhasználását (inokulumként), hiszen ez a gátló hatás további humán- és környezetbiztonsági kérdéseket vethet fel. Ez alapján az izolált és hatékonyan degradáló *Streptomyces* törzsek jövőbeni bioremediációs alkalmazása részben az adott törzs antimikrobiális képességének függvénye. Az antimikrobiális hatás és a rezisztencia terjesztés kockázatának csökkentése érdekében a baktérium törzsek *in vivo* felhasználása helyett az általuk termelt bontó enzimek felhasználása javasolt. A törzsek biotechnológiai célú alkalmazhatóságán belül olyan fermentációs eljárások kifejlesztését is javasolnám, amely a bontásért felelős enzimeket képes feltárni és felszaporítani, előremozdítva a mikotoxin mentesítési törekvéseket.

7. ENGLISH SUMMARY

Nowadays, one of the most challenging goals is to eliminate anthropogenic chemical and biological contaminations of the environment. A solution of this problem could be bioremediation, which is an activity, whereby pollutants are biologically transformed with complete or partial degradation. Bioremediation methods usually use bacteria and microscopic fungi for biological transformation. During degradation of hazardous materials, besides reducing concentration of pollutants, it is also important to consider their toxicity, since in many cases degradation products are also toxic. Although some bacterial strains are able to degrade harmful and toxic materials, they may not be suitable for bioremediation activities as they produce for instance antibiotics. During my research work, from 494 members of a strain collection consisting of 407 mainly *Streptomyces* strains were revitalized and identified taxonomically with molecular biology methods. As a result of the identification the revitalised collection contains 123 different *Streptomyces* species. Aflatoxin-B1 (AFB1) and zearalenone (ZEA) degradation and detoxification ability were investigated for 124 members of the strain collection identified as *Streptomyces* with immunanalytical methods and with monitoring biological effects. Finally, antimicrobial potential was studied for the identified strains against six test organisms (three bacteria and three microscopic fungi species).

Also I defined their temperature optimum and registered their phenotypic appearance (eg colony color, surface morphology, spore production). Photographic documentation of their growth form was made. During investigation of growth forms, most of the strains could grow on the different temperatures (at 24, 28 and 45°C) we set, also in many cases I could identify pigment formation and spore production.

After biodegradation experiment, degradation and detoxification abilities of the strains for aflatoxin-B1 (AFB1) and zearalenone (ZEA) were investigated by measuring the concentration of toxic molecules with ELISA test, and by testing remaining hormone and genotoxic effects with bioassays. In addition of high degradation efficiency, the remaining elements' genotoxic effects and changes due to ED effects should also be investigated. In mcoctoxin degradation experiments, based on biological impact assessment methods, I found that several strains were able to degrade the toxins, but only a few of them were capable of eliminating the genotoxic or hormonal effects. According to these findings it is necessary to monitor the biological effects after biodegradation methods. Based on the biodegradation results of the investigated 124 strains, strain K234 *St. cacaoi subsp. asoensis* was capable to effectively degrade AFB1 mycotoxin as well as eliminating the genotoxic effect according to biological impact tests. The

most effective degradation of ZEA were shown by strains *St. rimosus* K145 és K189, which strains also abolished the hormonal effects. During my experiments I have also proved that the decrease in toxin concentration is due to biodegradation on fact. I also proved based on mortified cell studies that in case of *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 decreasing hormonal effects was mainly due to the cell surface binding of ZEA.

Many of the *Streptomyces* genus members are able to produce effective antibiotic derivatives. These effects of the different strains were investigated with cross-dressing tests and diffusion hole test methods. In antimicrobial experiments I found that many members of the strain collection were able to have inhibitory effects on the test bacteria and fungi. In many cases of collection member *Streptomyces* species, the presence of antimicrobial effects was registered first, which were not published before. Strains *St. rimosus* K145 és K189 that were effective in ZEA degradation have shown an outstanding capability of antimicrobial effect. Although the good ZEA and AFB1 degrading strain *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 has shown poor capability of inhibitory effects against the test organisms.

The antimicrobial properties of *Streptomyces* may rise questions about the use of these strains in bioremediation techniques against mycotoxins (as an inoculum), as their inhibitory effect may cause additional public health and environmental issues. Therefore, the biodegradation use of the isolated *Streptomyces* strains that are capable of effectively degrading mycotoxins is partly dependent on their antimicrobial ability. In order to reduce the human health risk of antimicrobial activity and resistance distribution, instead of using bacterial strains in vivo, it is recommended to use the produced decomposing enzymes instead. I also would like to propose the development of fermentation processes for the biotechnology applications of the strains, that can detect and propagate the enzymes responsible for digestion, enhancing the mycotoxin discharge aspirations.

MELLÉKLETEK

MELLÉKLET 1 IRODALOMJEGYZÉK

Ackermann, H-W. Azizbekyan, R.R., Bernier, R. .L., Barjac, H., Saindoux, S., Valdro, J.-R., Yu, M. X. (1995) Phage typing of *Bacillus subtilis* and *R. thuringiensis*. *Research in Microbiology*, 146, 643-657.

Adegboye, M. F., & Babalola, O. O. (2012) Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes. *African Journal of Agricultural Research*, 7, 2255-2261.

Altalhi, A. D. (2007) Plasmid-mediated detoxification of mycotoxin zearalenone in *Pseudomonas* sp. ZEA-1. *American Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 3, 150-158.

Ambrus, Á., & Szeitzné Szabó, M. (2008) Gabona alapú termékek mikotoxin zennyeztségének élelmiszer-biztonsági értékelése, *Élelmiszer Tudomány Technológia*, 64, 10-14.

Anton, A. (2010) Bioremediáció: Mikrobiológiai kármentesítési eljárások. In: Kármentesítési kézikönyv 5. Környezetvédelmi és Területfejlesztési Minisztérium. (pp. 5-85)

Árokszallásy Z., Bánhegyi J., Boros Á., Gallé L., Hortobágyi T. (1968) Növényhatározó I. kötet Baktériumok-Mohák, Negyedik, átdolgozott és bővített kiadás Tankönyvkiadó,

Atta, H. (2010) Production, purification, physico-chemical characteristics and biological activities of antifungal antibiotic produced by *Streptomyces antibioticus*, AZ-Z710. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 5, 39-49.

Augustine, S. K., Bhavsar, S. P., Kapadnis, B. P. (2005) A non-polyene antifungal antibiotic from *Streptomyces albidoflavus* PU 23. *Journal of Biosciences*, 30, 201-211.

Baker, D. (1983) A Cumulative Listing of Isolated Frankiae, the Symbiotic, Nitrogen-Fixing Actinomycetes. *The Actinomycetes*, 17, 35-45.

Balagurunathan, R., & Subramanian, A. (1994) Isolation and purification of lactone antibiotic from *Streptomyces griseobrunneus* (P-33). In *International Symposium on Bio-products Processing Technologies for the Tropics*, University of Malaya.

Balagurunathan, R., & Subramanian, A. (1998) In vitro inhibition of fish pathogens by an antibiotic from *Streptomyces griseobrunneus*, *Malaysian Applied Biology*, 27, 149-150.

Balitz, D. M., Bush, J. A., Bradner, W. T., Doyle, T. W., O'Herron, F. A., Nettleton, D. E. (1982) Isolation of lavendamycin. A new antibiotic from *Streptomyces lavendulae*. *The Journal of Antibiotics*, 35, 259-265.

Battilani, P., Toscano, P., Van der Fels-Klerx, H. J., Moretti, A., Leggieri, M. C., Brera, C., Rortais, A., Goumperis, T., Robinson, T. (2016) Aflatoxin-B1 contamination in maize in Europe increases due to climate change. *Scientific reports*, 6, 24328.

Benimeli, C. S., Amoroso, M. J., Chaile, A. P., Castro, G. R. (2003) Isolation of four aquatic streptomycetes strains capable of growth on organochlorine pesticides. *Bioresource Technology*, 89, 133-138.

Benimeli, C. S., Fuentes, M. S., Abate, C. M., Amoroso, M. J. (2008) Bioremediation of lindane-contaminated soil by *Streptomyces* sp. M7 and its effects on *Zea mays* growth. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 61, 233-239.

- Bérdy, J. (2005) Bioactive microbial metabolites. *Journal of Antibiotics*, 58, 1-26.
- Berek, L., Petri, I. B., Mesterhazy, A., Téren, J., Molnár, J. (2001) Effects of mycotoxins on human immune functions *in vitro*. *Toxicology in vitro*, 15, 25-30.
- Bergey, D. H., & Holt, J. G. (2000) *Actinomycetales*. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*, 9. kiadás, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Beyer, M., & Diekmann, H. (1985) The chitinase system of *Streptomyces sp.* ATCC 11238 and its significance for fungal cell wall degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 23, 140-146.
- Bollinger, O. (1877) Über eine neue Pilzkrankheit beim Rinde. *Zentralblatt für die Medizinischen Wissenschaften*. 10, 481-485.
- Bonev, B., Hooper, J., Parisot, J. (2008) Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61, 1295-1301.
- Borders, D. B. (2007) Antibiotics, survey. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*.
- Bottalico, A. (1998) Fusarium diseases of cereals: species complex and related mycotoxin profiles, in Europe. *Journal of Plant Pathology*, 80, 85-103.
- Bravin, F., Duca, R. C., Balaguer, P., Delaforge, M. (2009) *In vitro* cytochrome P450 formation of a mono-hydroxylated metabolite of zearalenone exhibiting estrogenic activities: possible occurrence of this metabolite *in vivo*. *International Journal of Molecular Sciences*, 10, 1824-1837.
- Busse, H. J., Denner, E. B., Lubitz, W. (1996) Classification and identification of bacteria: current approaches to an old problem. Overview of methods used in bacterial systematics. *Journal of Biotechnology*, 47, 3-38.
- Calderón, C. B., & Sabundayo, B. P. (2007) Antimicrobial Classifications. In: Schwalbe, R., Steele-Moore, L., Goodwin, A.C. (szerk.) *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*, CRC Press, Taylor and Francis Group.
- Calow, P. (szerk.) (1993) *Handbook of Ecotoxicology*, Blackwell Science Ltd., 487 p.
- Carnaghan, R. B. A., Hartley, R. D., O'Kelly, J. (1963) Toxicity and fluorescence properties of the aflatoxins, *Nature*, 200, 1101.
- Carter, S. K., Umezawa, H., Douros, J., Sakurai, Y. (szerk.) (2012) *Antitumor antibiotics* (Vol. 63). Springer Science & Business Media.
- Castanon, J. I. R. (2007) History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science*, 86, 2466-2471.
- Centers for Disease Control and Prevention (2013) *Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013*. Available at: www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/ Accessed February 27, 2014.
- Cerniglia, C. E. (1993) Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology*, 4, 331-338.

- Champness, W. (2000) Actinomycete development, antibiotic production, and phylogeny: questions and challenges. In Procaryotic Development. In: Brun Y. V. & Shimkets L. J. (szerk.) Washington DC: American Society for Microbiology. 11-31 p.
- Chater, F. K., & Merrick, M. J. (1979) *Streptomyces*. In: Parish J. H. (szerk.) Developmental Biology of Prokaryotes. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 93-114 p.
- Chen, W., Huang, T., He, X., Meng, Q., You, D., Bai, L., Li, J., Wu, M., Li, R., Xie, Z., Zhou, H., Zhou, X., Tan, H., Deng, Z. (2009) Characterization of the polyoxin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces cacaoi* and engineered production of polyoxin H. Journal of Biological Chemistry, 284, 10627-10638.
- Chen, X., Zhu, X., Ding, Y., Shen, Y. (2011) Antifungal activity of tautomycin and related compounds against *Sclerotinia sclerotiorum*. The Journal of Antibiotics, 64, 563-569.
- Chen, Y., McClure, R. A., Kelleher, N. L. (2016) Screening for Expressed Nonribosomal Peptide Synthetases and Polyketide Synthases Using LC-MS/MS-Based Proteomics. Nonribosomal Peptide and Polyketide Biosynthesis: Methods and Protocols, 135-147.
- Cheng, J., Jin, Y. Y., Yang, S. H., Suh, J. W. (2013) Isolation and characterization of anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* vancomycin resistant *Enterococcus* compound from *Streptomyces bungoensis* MJM 2077. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 56, 107-111.
- Clark, M. F., & Adams, A. N. (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology, 34, 475-483.
- Cohn, F. (1875) Untersuchungen über Bakterien. II. Beitrage zur Biologie der Pflanzen 3, 141–207.
- Čonková, E., Laciaková, A., Pástorová, B., Seidel, H., Kováč, G. (2001) The effect of zearalenone on some enzymatic parameters in rabbits. Toxicology Letters, 121, 145-149.
- Cozzarelli, N. R. (1977) The mechanism of action of inhibitors of DNA synthesis. Annual Review of Biochemistry, 46, 641-668.
- Crawford, R. L. (1996) Bioremediation. John Wiley & Sons, Inc.
- Crueger, W., & Crueger, A. (2006) Biotechnology: a textbook of industrial microbiology. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.
- Cserháti, M., Kriszt, B., Krifaton, C., Szoboszlay, S., Háhn, J., Tóth, S., Nagy, I., Kukolya, J. (2013) Mycotoxin-degradation profile of *Rhodococcus* strains. International Journal of Food Microbiology, 166, 176-185.
- D'Mello, J.P.F. & MacDonald, A.M.C. (1997) Mycotoxins. Animal Feed Science Technology, 69, 155–166.
- D'mello, J. F., Macdonald, A. M., Postel, D., Dijksma, W. T., Dujardin, A., Placinta, C. M. (1998) Pesticide use and mycotoxin production in *Fusarium* and *Aspergillus* phytopathogens. European Journal of Plant Pathology, 104, 741-751.
- D'mello, J. P. F., Placinta, C. M., Macdonald, A. M. C. (1999) *Fusarium* mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. Animal Feed Science and Technology, 80, 183-205.

Dastager, S.G., Li, W.J., Dayanand, A., Tang, S.K., Tian, X.P., Zhi, X.Y., Xu, L.H. Jiang, C.L. (2006) Separation, identification and analysis of pigment (melanin) production in *Streptomyces*. African Journal of Biotechnology, 5, 1131-1134.

Deák T. (szerk.) (2006) Élelmiszer-mikrobiológia. Mezőgazda kiadó, Budapest, 382 p.

Debnath, R., Saikia, R., Sarma, R. K., Yadav, A., Bora, T. C., Handique, P. J. (2013) Psychrotolerant antifungal *Streptomyces* isolated from Tawang, India and the shift in chitinase gene family. Extremophiles, 17, 1045-1059.

De Lima Procópio, R. E., da Silva, I. R., Martins, M. K., de Azevedo, J. L., de Araújo, J. M. (2012) Antibiotics produced by *Streptomyces*. The Brazilian Journal of Infectious Diseases, 16, 466-471.

Demain A.L. (1992) Microbial secondary metabolism: a new theoretical frontier for academia, a new opportunity for industry In: Chadwick, D.J, Whelan, J. (szerk.) Secondary Metabolites: Their Function and Evolution, John Wiley & Sons, pp. 3-23.

Dey, S., Kanekar, P., & Godbole, S. H. (1986) Aerobic microbial degradation of m-dinitrobenzene. Indian Journal of Environmental Health, 29, 118-128.

Ding, C., & He, J. (2010) Effect of antibiotics in the environment on microbial populations. Applied Microbiology and Biotechnology, 87, 925-941.

Ding, D., Chen, G., Wang, B., Wang, Q., Liu, D., Peng, M., Shi, P. (2013) Culturable *Actinomycetes* from desert ecosystem in northeast of Qinghai-Tibet Plateau. Annals of Microbiology, 63, 259-266.

Dobolyi CS., Sebők F., Varga J., Kocsubé S., Szigeti GY., Baranyi N., Szécsi Á., Lustyik GY., Micsinai A., Tóth B., Varga, M., Kriszt, B., Kukolya J. (2011) Aflatoxin-termelő *Aspergillus flavus* törzsek előfordulása hazai kukorica szemtermésben. Növényvédelem, 47, 125–133.

Dunne, E.F., Burman, W.J., Wilson, M.L. (1998) *Streptomyces pneumonia* in a patient with human immunodeficiency virus infection: case report and review of the literature on invasive *Streptomyces* infections. Clinical Infectious Diseases, 27, 93-96.

Dyson, P. (2011) *Streptomyces: Molecular Biology and Biotechnology*, Caister Academic Press, Norfolk UK.

Ebata, E., Kasahara, H., Sekine, K., Inoue, Y. (1975) Lysocellin, a new polyether antibiotic. I. Isolation, purification, physico-chemical and biological properties. The Journal of Antibiotics, 28, 118-121.

EFSA (2009) Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety. Scientific Report, EFSA, CFP/EFSA/FEEDAP/2009/01, 1-192. p.

El-Nasser, N. H. A., Helmy, S. M., Ali, A. M., Keera, A. A., & Rifaat, H. M. (2010) Production, purification and characterization of the antimicrobial substances from *Streptomyces viridodiastaticus* (NRC1). Canadian Journal of Pure and Applied Sciences, 4, 1045-1051.

El-Sayed, E. S., Ezzat, S. M., Ghaly, M. F., Mansour, M. (2000) Purification and characterization of two chitinases from *Streptomyces albobinaceus* S-22. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 16, 87-89.

- El-Shafei, H. A., El-Nasser, N. H. A., Kansoh, A. L., Ali, A. M. (1998) Biodegradation of disposable polyethylene by fungi and *Streptomyces* species. *Polymer Degradation and Stability*, 62, 361-365.
- El-Sharkawy, S. H., & Abul-Hajj, Y. J. (1988) Microbial transformation of zearalenone. 2. Reduction, hydroxylation, and methylation products. *The Journal of Organic Chemistry*, 53, 515-519.
- Eshelli, M., Harvey, L., Edrada-Ebel, R., McNeil, B. (2015) Metabolomics of the Bio-Degradation Process of Aflatoxin-B1 by *Actinomyces* at an Initial pH of 6.0. *Toxins*, 7, 439-456.
- Ezaki, M., Iwami, M., Yamashita, M., Hashimoto, S., Komori, T., Umehara, K., Mine, Y., Kohsaka, M., Aoki, H., Imanaka, H. (1985) Biphenomycins A and B, novel peptide antibiotics. I. Taxonomy, fermentation, isolation and characterization. *The Journal of Antibiotics*, 38, 1453-1461.
- Farkas, I. (1982) Cellulóz bontó aktinomicéták a Keszthelyi-öbölben és a „Zala-határ” bakteriológiai indikációjának kérdése. *MTA Biológiai Tudományok Osztályának Közleményei*, 25, 191-200.
- Fernandez, C. (1982) A hévízi gyógyító bakteorológiai sajátosságai. *MTA Biológiai Tudományok Osztályának Közleményei*, 25, 339-351.
- Fischbach, M. A., & Walsh, C. T. (2009) Antibiotics for emerging pathogens. *Science*, 325, 1089-1093.
- Finlay, A. C., Hobby, G. L., P'an, S. Y., Regna, P. P., Routien, J. B., Seeley, D. B., Schull, G. M., Sobin, B. A., Solomons I. A., Vinson, J. W., Kane, J. H. (1950) Terramycin, a new antibiotic. *American Association for the Advancement of Science. Science*, 111, 85-7.
- Flandrois, J.P., Perrière, G., Gouy, M. (2014) *BMC Bioinformatics*. 2015, 16:251 DOI: 10.1186/s12859-015-0692-z, <http://umr5558-bibiserv.univ-lyon1.fr/lebibi/lebibi.cgi>
- Froehner, K., Meyer, W., Grimme, L. H. (2002) Time-dependent toxicity in the long-term inhibition assay with *Vibrio fischeri*. *Chemosphere*, 46, 987-997.
- Fuentes, M. S., Benimeli, C. S., Cuozzo, S. A., Amoroso, M. J. (2010) Isolation of pesticide-degrading actinomycetes from a contaminated site: bacterial growth, removal and dechlorination of organochlorine pesticides. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64, 434-441.
- Gallert, C. (2000) Degradation of latex and of natural rubber by *Streptomyces* strain La 7. *Systematic and Applied Microbiology*, 23, 433-441.
- Gebhardt, K., Schimana, J., Krastel, P., Dettner, K., Rheinheimer, J., Zeeck, A., Fiedler, H. P. (2002) Endophenazines AD, new phenazine antibiotics from the arthropod associated endosymbiont *Streptomyces anulatus*. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. *The Journal of Antibiotics*, 55, 794-800.
- Gherna, R. L. (1994) Culture preservation. In *Methods for General and Molecular Bacteriology* pp. 154-156. Edited by P. Gerhardt, R. G. E. Murray, W. A. Wood & N. R. Krieg. Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Gilpin, M. L., Box, S. J., Elson, A. L. (1988) New quinone antibiotics of the granaticin type, isolated from *Streptomyces lateritius*. II. Structure determination. *The Journal of Antibiotics*, 41, 512-518.

- Golli-Bennour, E. E., Kouidhi, B., Bouslimi, A., Abid-Essefi, S., Hassen, W., Bacha, H. (2010) Cytotoxicity and genotoxicity induced by aflatoxin-B1, ochratoxin A, and their combination in cultured Vero cells. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 24, 42-50.
- Golueke, C. G. (1991) Principles of composting. Staff of BioCycle, The Art and Science of Composting (Journal of Waste Recycling), The JG Press Inc., Pennsylvania, USA.
- Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983) Ecology of *Actinomycetes*. *Annual Reviews in Microbiology*, 37, 189-216.
- Goodfellow, M., & Cross, T. (1984) Classification, In: Goodfellow, M., Mordarski, M. & Williams S.T. (szerk.), *The Biology of the Actinomycetes*. Academic Press, London. 7-164.
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., Suzuki, K. I., Ludwig, W., Whitman, W. B. (szerk.), (2012) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer New York.
- Graber, H. (1990) Az antibiotikumkezelés gyakorlata, *Medicina*, Budapest. 3-5 p
- Grabley, S., Hammann, P., Kluge, H., Wink, J., Kricke, P., Zeeck, A. (1991) Secondary metabolites by chemical screening 4. Detection, isolation and biological activities of chiral synthons from *Streptomyces*. *The Journal of Antibiotics*, 44, 797-800.
- Gramajo, H. C., Takano, E., Bibb, M. J. (1993) Stationary-phase production of the antibiotic actinorhodin in *Streptomyces coelicolor* A3 (2) is transcriptionally regulated. *Molecular Microbiology*, 7, 837-845.
- Gromadzka, K., Waskiewicz, A., Chelkowski, J., Golinski, P. (2008) Zearalenone and its metabolites: occurrence, detection, toxicity and guidelines. *World Mycotoxin Journal*, 1, 209-220.
- Guimarães, B. C., Arends, J. B., Van der Ha, D., Van de Wiele, T., Boon, N., Verstraete, W. (2010) Microbial services and their management: recent progresses in soil bioremediation technology. *Applied Soil Ecology*, 46, 157-167.
- Gupta, R. K., Patterson, S. S., Ripp, S., Simpson, M. L., Saylor, G. S. (2003) Expression of the *Photorhabdus luminescens lux* genes (*luxA*, *B*, *C*, *D*, and *E*) in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Research*, 4, 305-313.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4, 9, http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- Harrison, P. H., Noguchi, H., Vederas, J. C. (1986) Biosynthesis of polyene antibiotics: intact incorporation of carbon-13 labeled octanoate into fungichromin by *Streptomyces cellulosa*. *Journal of the American Chemical Society*, 108, 3833-3834.
- Harz, C. O. (1879) *Actinomyces bovis*: ein neuer Schimmel in den Geweben des Rindes. *Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin*. 5, 125-140.
- Hashimoto, M., Katsura, H., Kato, R., Kawaide, H., Natsume, M., (2011) Effect of pamamycin-607 on secondary metabolite production by *Streptomyces sp.* *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75, 1722-1726.
- Hauser, A. R., & Rello, J. (2003) Severe infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Kluwer Academic Publishers Group, Post Office Box 322. 3300 AH Dordrecht, The Netherlands.

- Hayashi, T., Noto, T., Nawata, Y., Okazaki, H., Sawada, M., Ando, K. (1982) Cyanocycline A, a new antibiotic taxonomy of the producing organism, fermentation, isolation and characterization. *The Journal of Antibiotics*, 35, 771-777.
- Hermida, É. B., Yashchuk, O., Miyazaki, S. S. (2009) Changes in the mechanical properties of compression moulded samples of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) degraded by *Streptomyces omiyaensis* SSM 5670. *Polymer Degradation and Stability*, 94, 267-271.
- Hegedűs, É. (2010) DNS folytonosságihányok vizsgálata *Saccharomyces cerevisiae* sejtekben, Doktori (PhD) értekezés, Debrecen. p. 16.
- Hochstein, F. A., & Murai, K. (1954) Magnamycin B, a second antibiotic from *Streptomyces halstedii*. *Journal of the American Chemical Society*, 76, 5080-5083.
- Hopwood, D. A. (2007) *Streptomyces* in Nature and Medicine: The Antibiotic Makers, Oxford University Press Inc. 198 Madison Avenue, New York, New York 10016.3 p.
- Hopwood, D. A., & Ferguson, H. M. (1969) A rapid method for lyophilizing *Streptomyces* cultures. *Journal of Applied Bacteriology*, 32, 434-436.
- Hormisch, D., Kohring, W.W., Giffhorm, F., Kroppenstedt, R.M., Stackebrandt, E., Färber, P., Holzappel, W.H. (2004) *Mycobacterium fluoranthenivorans* sp. nov., a fluoranthene and aflatoxin-B1 degrading bacterium from contaminated soil of a former coal gas plant. *Systematical and Applied Microbiology*, 27, 653-660.
- Horváth, J. (1960) Az antibiotikumtermelő sugárgombák. In: Magyarország kultúrflórája, Erdei F. & Jávorka, S. (szerk.) . I. kötet, Virágtalanok, 6. füzet. Akadémiai Kiadó, Budapest. 1-52 p.
- Höltzel, A., Dieter, A., Schmid, D. G., Brown, R., Goodfellow, M., Beil, W., Jung, G., Fiedler, H. P. (2003) Lactonamycin Z, an antibiotic and antitumor compound produced by *Streptomyces sanglieri* strain AK 623. *The Journal of Antibiotics*, 56, 1058-1061.
- Hruska, Z., Rajasekaran, K., Yao, H., Kincaid, R., Darlington, D., Brown, R. L., Bathnagar, D. & Cleveland, T. E. (2014) Co-inoculation of aflatoxigenic and non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus flavus* to study fungal invasion, colonization, and competition in maize kernels. *Frontiers in Microbiology*, 5, 122.
- Hughes Jr., C.L., Chakinala, M.M., Reece, S.G., Miller, R.N., Schomberg Jr., D.W., Basham, K.B. (1991) Acute and subacute effects of naturally occurring estrogens on luteinizing hormone secretion in the ovariectomized rat: Part 2. *Reproductive Toxicology*, 5, 133-137.
- Hussein, H.S., & Brasel, J.M. (2001) Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* 167, 101-134.
- Jain, P. K., & Jain, P. C. (2007) Isolation, characterization and antifungal activity of *Streptomyces sampsonii* GS 1322. *Indian Journal of Experimental Biology*, 45, 203-206.
- Jay, J. M. (1998) Food preservation with chemicals. In: *Modern food microbiology* (pp. 273-303). Springer US.
- Jayabarath, J., Musfira, S. A., Giridhar, R., Sundar, S. S., Arulmurugan, R. (2010) Biodegradation of carbofuran pesticide by saline soil *Actinomycetes*. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 6, 187-192.
- Jeney, A. (2006) Fejlődésspecifikus gének izolálása és jellemzése a *Gibberella intermedia* (*Fusarium proliferatum*) gombáról, Doktori (PhD) értekezés, Gödöllő.

- Jihani, S., Brodolin, K., Iraqui, M., Ibsouda, S., Haggoud, A. (2012) Isolation and molecular identification of antibiotic-producing *Actinomycetes* from an old house in the medina of Fez, Morocco. *African Journal of Microbiology Research*, 6, 7370-7376.
- Jin-Yong, J. S. B. F., & Ying-Jin, Y. U. A. N. (2005) Isolation and Purification of the Antifungal Antibiotic from the Fermentation Broth of *Streptomyces luteogriseus* H-103 [J]. *Microbiology*, 3.
- Johnson, L. E., & Dietz, A. (1968) Kalafungin, a new antibiotic produced by *Streptomyces tanashiensis* strain Kala. *Applied Microbiology*, 16, 1815-1821.
- Jones A. M., & Harrison R. M. (2004) The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations-a review. *Science of the Total Environment*, 326, 151-180.
- Joo, G. J. (2005) Purification and characterization of an extracellular chitinase from the antifungal biocontrol agent *Streptomyces halstedii*. *Biotechnology Letters*, 27, 1483-1486.
- Juhász, J., Nagy, P., Kulcsár, M., Szigeti, G., Reiczigel, J., Huszenicza, G. Y. (2001) Effect of low-dose zearalenone exposure on luteal function, follicular activity and uterine oedema in cycling mares. *Acta Veterinaria Hungarica*, 49, 211-222.
- Kadiri, S. K., & Yarla, N. S. (2016) Optimization of antimicrobial metabolites production by *Streptomyces fradiae*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7, 223-225.
- Kalyani, A. L. T., Naga Sireesha, G., Aditya, A. K. G., Girija Sankar, G. (2014) Isolation of antimicrobial activity of rhamnolipid (biosurfactant) from oil contaminated soil sample using humic acid salts vitamin agar. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 3, 357-365.
- Kaszab, E. (2010) A *Pseudomonas aeruginosa* környezetbiztonsági jelentősége antropogén hatás alatt álló közegekben. Doktori (PhD) értekezés, Gödöllő.
- Kaur, T., Kaur, A., Sharma, V., Manhas, R. K. (2016) Purification and characterization of a new antifungal compound 10-(2, 2-Dimethyl-cyclohexyl)-6, 9-dihydroxy-4, 9-dimethyl-dec-2-enoic acid methyl ester from *Streptomyces hydrogenans* strain DH16. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1-10.
- Kerényi, Z., Giczey, G., Jeney, A. (2007) A *Gibberella fujikuroi* vegetatív inkompatibilitási rendszere, növénykórtani és toxikológiai következmények: The vegetative incompatibility system of *Gibberella fujikuroi*, plant pathological and toxicological aspects. Project Report. OTKA.
- Kimura, K. I., & Bugg, T. D. (2003) Recent advances in antimicrobial nucleoside antibiotics targeting cell wall biosynthesis. *Natural Product Reports*, 20, 252-273.
- Klingbeil, B., Kroppenstedt, R. M., Jendrossek, D. (1996) Taxonomic identification of *Streptomyces exfoliatus* K10 and characterization of its poly (3-hydroxybutyrate) depolymerase gene. *FEMS Microbiology Letters*, 142, 215-221.
- Kobayashi, Y. O., Kobayashi, A., Maeda, M., Someya, N., Takenaka, S. (2015) Biological control of potato scab and antibiosis by antagonistic *Streptomyces* sp. WoRs-501. *Journal of General Plant Pathology*, 81, 439-448.
- Kohut, G. (2009) Az Fphog1 HOG típusú MAP kináz új funkciói *Fusarium proliferatum*-ban, Doktori (PhD) értekezés, Gödöllő.

- Kolter, R., Siegele, D. A., Tormo, A. (1993) The stationary phase of the bacterial life cycle. *Annual Reviews in Microbiology*, 47, 855-874.
- Kovács F. (2001) Penészgombák-mikotoxinok 13-20. p. In: Kovács F. (szerk): Penészgombák, mikotoxinok a táplálékláncban. MTA Agrártudományos Osztálya, Budapest, 212 p.
- Kraszilnyikov, N. A., & Korenjako, A. I. (1938) The phenomenon of autolysis in *Actinomycetes*. *Moszkva*, 7, 829-837.
- Krifaton, C., Kriszt, B., Szoboszlay, S., Cserhádi, M., Szűcs, Á., Kukolya, J. (2011) Analysis of aflatoxin-B1-degrading microbes by use of a combined toxicity-profiling method. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 726, 1-7.
- Krifaton, C. (2012) Biomonitoring rendszerek fejlesztése az aflatoxin-b1 és a zearalenon vizsgálatára, Doktori (PhD) értekezés, Gödöllő
- Krifaton, C., Kriszt, B., Risa, A., Szoboszlay, S., Cserhádi, M., Harkai, P., Eldridge, M., Wang, J., Kukolya, J. (2013) Application of a yeast estrogen reporter system for screening zearalenone degrading microbes. *Journal of Hazardous Materials*, 244, 429-435.
- Kuiper-Goodman, T., Scott, P., Watanabe, H. (1987) Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 7, 253-306.
- Kunihiro, S., & Kaneda, M. (2003) Glomecidin, a novel antifungal cyclic tetrapeptide produced by *Streptomyces lavendulae* H698 SY2. *The Journal of Antibiotics*, 56, 30-33.
- Lahoum, A., Verheecke-Vaessen, C., Bouras, N., Sabaou, N., Mathieu, F. (2017) Taxonomy of mycelial *actinobacteria* isolated from Saharan soils and their efficiency to reduce aflatoxin-B1 content in a solid-based medium. *Annals of Microbiology*, 67(3), 231-237.
- Lancini, G., & Lorenzetti, R. (1993) *Biotechnology of Antibiotics and Other Bioactive Microbial Metabolites*, Plenum Press, New York, A Division of Lenum Publishing Corporation, 233 Spring Street New York, N.Y. 10013. 29-31 p.
- Lane, D.J. (1991) 16S/23S rRNA sequencing. in *Nucleic Acid Techniques* In: Stackebrandt, E., Goodfellow, M. (szerk.): *Bacterial Systematics*. Wiley, New York, 115-175 p.
- Latgé, J-P., & Steinbach, W. J. (2009) *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis, ASM Press, American Society for Microbiology, 1752 N Street, N. W. Washington, DC 20036-2904
- Latha, K., & Lalithakumari, D. (2001) Transfer and expression of a hydrocarbon-degrading plasmid pHCL from *Pseudomonas putida* to marine bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17, 523-528.
- Lazzarini, A., Cavaletti, L., Toppo, G., Marinelli, F. (2000) Rare genera of *Actinomycetes* as potential producers of new antibiotics. *Antonie van Leeuwenhoek*, 78, 399-405.
- Lee, S. Y., Tindwa, H., Lee, Y. S., Naing, K. W., Hong, S. H., Nam, Y., Kim, K. Y. (2012) Biocontrol of anthracnose in pepper using chitinase, beta-1, 3 glucanase, and 2-furancarboxaldehyde produced by *Streptomyces cavourensis* SY224. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22, 1359-1366.
- Legault, R., Blaise, C., Rokosh, D., Chong-Kit, R. (1994) Comparative assessment of the SOS Chromotest kit and the Mutatox test with the *Salmonella* plate incorporation (Ames test) and fluctuation tests for screening genotoxic agents. *Environmental Toxicology and Water Quality*, 9, 45-57.

- Lin, Q. S., Chen, S. H., Hu, M. Y., Haq, M. U., Yang, L., Li, H. (2011) Biodegradation of cypermethrin by a newly isolated *Actinomyces* HU-S-01 from wastewater sludge. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 8, 45-56.
- Lindner, K. E. (1977) *Urania Növényvilág. Alacsonyabb rendű növények. Baktériumok.* Gondolat Kiadó, Budapest. 41-42 p.
- Loria, R., Bukhalid, R. A., Fry, B. A., King, R. R. (1997) Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Plant Disease*, 81, 836-846.
- Ludwig, W., Euzéby, J., Schumann, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., Kämpfer, P., Whitman, W. B. (2012) Road map of the phylum *Actinobacteria*. In *Bergey's manual® of systematic bacteriology*, Springer New York, pp. 1-28.
- Mabrouk, M. M., & Sabry, S. A. (2001) Degradation of poly (3-hydroxybutyrate) and its copolymer poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by a marine *Streptomyces sp.* SNG9. *Microbiological Research*, 156, 323-335.
- MacLeod, A. J., Ross, H. B., Ozere, R. L., Digout, G., Van Rooyen, C. E. (1964) Lincomycin: a new antibiotic active against *Staphylococci* and other gram-positive cocci: clinical and laboratory studies. *Canadian Medical Association Journal*, 91, 1056-1060.
- Maehr, H., & Evans, R. H. (1987) Identity of borreliden with treponemycin. *The Journal of Antibiotics*, 40, 1455-1456.
- Mann, R. & Rhem, H. J. (1976) Degradation products from aflatoxin-B1 by *Corynebacterium rubrum*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* and *Mucor ambiguus*. *European Journal of Applied Microbiology*, 2, 297-306.
- Manning, S. D. (2010) *Escherichia coli* Infection, Second Edition. *Deadly Diseases and Epidemics Set*, 46-Volumes. Chelsea House. 136 p.
- Maráz A. (2001) Eukarióta mikroorganizmusok. In: Pesti M. (szerk.) (2001) *Általános mikrobiológia.* Dialóg Campus Kiadó, Budapest-Pécs, 308, 117-163.
- Márialigeti, K., & Rajki, K. (1982) Sugárgombák szóródása balatoni halfajok bélcsatornájában. *MTA Biológiai Tudományok Osztályának Közleményei*, 25, 305-311.
- Matsumoto, N., Tsuchida, T., Maruyama, M., Kinoshita, N., Homma, Y., Iinuma, H., Sawa, T., Hamada, M., Takeuchi, T., Heida, N., Yoshioka, T. (1999) Lactonamycin, a new antimicrobial antibiotic produced by *Streptomyces rishiriensis* MJ773-88K4. I. Taxonomy, fermentation, isolation, physico-chemical properties and biological activities. *The Journal of Antibiotics*, 52, 269-275.
- Mátrai T., Rafai P., Szigeti G. (2003) A takarmányok penészgombás fertőzöttségének állategészségügyi jelentősége 208-229. p. In: Rafai P. (szerk.): *Állathigiéniá.* Agroinform Kiadó, Budapest, 343 p.
- McCarthy, A. J., & Williams, D S. T. (1992) *Actinomyces* as agents of biodegradation in the environment-a review. *Gene*, 115, 189-192.
- McCormick, S. P. (2013) Microbial detoxification of mycotoxins. *Journal of Chemical Ecology*, 39, 907-918.
- McLean, M., & Dutton, M.F., (1995) Cellular interactions and metabolism of aflatoxin: an update. *Pharmacology and Therapeutics*, 65, 163-192.

- McNeil, M.M., & Brown, J.M. (1994) The medically important aerobic *Actinomycetes*: epidemiology and microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 7, 357-417.
- Megharaj, M., Garthwaite, I., Thiele, J. H. (1997) Total biodegradation of the oestrogenic mycotoxin zearalenone by a bacterial culture. *Letters in Applied Microbiology*, 24, 329-333.
- Mergeay, M. & Van Houdt, R. (2012). Plasmids as secondary chromosomes. *Molecular Life Sciences: An Encyclopedic Reference*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, 1-4.
- Mersch-Sundermann, V., Kevekordes, S., Mochayedi, S. (1991) Sources of variability of the *Escherichia coli* PQ37 genotoxicity assay (SOS Chromotest). *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 252, 51-60.
- Mézes M., & Balogh K. (2010) Mikotoxinok hatása a szervezet lipidperoxidációs folyamataira és antioxidáns rendszerére. In: Kovács M. (szerk.) (2010) Aktualitások a mikotoxin kutatásban, Agroinform Kiadó, Budapest, 156., 59-71.
- Mincer, T. J., Jensen, P. R., Kauffman, C. A., Fenical, W. (2002) Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 5005-5011.
- Mishra, H. N., & Das, C. (2003) A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 245-264.
- Mitterbauer, R., Bachmann, H., Poppenberger, B., Safaie, N., Adam, G. (2003) Development and applications of a yeast-based bioassay for the mycotoxin zearalenone. *Mycotoxin Research*, 19, 69-72.
- Miyazaki, Y., Shibuya, M., Sugawara, H., Kawaguchi, O., Hirose, C., Nagatsu, J., Esumi, S. (1974) Salinomycin, a new polyether antibiotic. *The Journal of Antibiotics*, 27, 814-821.
- Mohandas, S., Poovarasan, S., Panneerselvam, P., Saritha, B., Upreti, K. K., Kamal, R., Sita, T. (2013) Guava (*Psidium guajava* L.) rhizosphere *Glomus mosseae* spores harbor *Actinomycetes* with growth promoting and antifungal attributes. *Scientia Horticulturae*, 150, 371-376.
- Molnar, O., Schatzmayr, G., Fuchs, E., Prillinger, H. (2004). *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. nov., a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins. *Systematic and Applied Microbiology*, 27, 661-671.
- Moya, R., Hernández, M., García-Martín, A. B., Ball, A. S., Arias, M. E. (2010) Contributions to a better comprehension of redox-mediated decolouration and detoxification of azo dyes by a laccase produced by *Streptomyces cyaneus* CECT 3335. *Bioresource Technology*, 101, 2224-2229.
- Nakagawa, K., Sato, K., Okazaki, T., Torikata, A. (1991) Microbial conversion of milbemycins: 13. BETA., 29-dihydroxylation of milbemycins by soil isolate *Streptomyces cavourensis*. *The Journal of Antibiotics*, 44, 803-805.
- Noguchi, H., Harrison, P. H., Arai, K., Nakashima, T. T., Trimble, L. A., Vederas, J. C. (1988) Biosynthesis and full NMR assignment of fungichromin, a polyene antibiotic from *Streptomyces cellulose*. *Journal of the American Chemical Society*, 110, 2938-2945.
- Okami, Y., & Okazaki, T. (1978) *Actinomycetes* in Marine Environments. In: Mordarski, M., Kurlylowicz, W., & Jeljaszewicz, J. (szerk.): *Nocardia and Streptomyces*. Proceedings of the International Symposium on *Nocardia and Streptomyces*, Warsaw, October 4-8, 1976. Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag. 145-151 p.

- Ouhdouch, Y., Barakate, M., Finance, C. (2001) *Actinomycetes* of Moroccan habitats: isolation and screening for antifungal activities. *European Journal of Soil Biology*, 37, 69-74.
- Park, C. N., Lee, D., Kim, W., Hong, Y., Ahn, J. S., Kim, B. S. (2007) Antifungal activity of salaceyin A against *Colletotrichum orbiculare* and *Phytophthora capsici*. *Journal of Basic Microbiology*, 47, 332-339.
- Paul, E. A. (2006) *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. Academic press.
- Pérez, M., Schleissner, C., Fernández, R., Rodríguez, P., Reyes, F., Zuñiga, P., de la Calle, F., Cuevas, C. (2016) PM100117 and PM100118, new antitumor macrolides produced by a marine *Streptomyces caniferus* GUA-06-05-006A. *The Journal of Antibiotics*, 69, 388-394.
- Perlman, D. (2012) Microbial production of antibiotics. In: Perlman, D. (szerk.) *Microbial Technology: Microbial Processes*. Elsevier.
- Pesti, M., Bíró S., Hornok L., Kevei F., Kucsera J., Maráz A., Szűcs Gy., Vágvölgyi Cs. (2001) *Általános mikrobiológia*, Dialóg Campus Kiadó, Budapest-Pécs, 304, 67-69.
- Pospisil, S., Sedmera, P., Vokoun, J., Vanek, Z., Budesinsky, M. (1987) 3-O-demethylmonensins A and B produced by *Streptomyces cinnamomensis*. *The Journal of Antibiotics*, 40, 555-557.
- Pometto, A. L., Lee, B. T., Johnson, K. E. (1992) Production of an extracellular polyethylene-degrading enzyme(s) by *Streptomyces* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 58, 731-733.
- Prakash, D., Nawani, N., Prakash, M., Bodas, M., Mandal, A., Khetmalas, M., Kapadnis, B. (2013) *Actinomycetes: A repertory of green catalysts with a potential revenue resource*. BioMed Research International.
- Quillardet, P., Huisman, O., D'ari, R., Hofnung, M. (1982) SOS Chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79, 5971-5975.
- Quillardet, P., De Bellecombe, C., Hofnung, M. (1985) The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: validation study with 83 compounds. *Mutation Research*, 147, 79-95.
- Quillardet, P., & Hofnung, M. (1985) The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 147(3), 65-78.
- Rahmansyah, M., Agustiyani, D., Julistiono, H., Dewi, T. K. (2012) Growth and adaptation of four *Streptomyces* isolates in the media containing propoxur. *ARNP Journal of Agricultural and Biological Science*, 7, 773-781.
- Rajilić-Stojanović, M., Smidt, H., De Vos, W.M. (2007) Diversity of the human gastrointestinal tract microbiota revisited. *Environmental Microbiology*, 9, 2125-2136.
- Rao, A., Venkateshvarlu, B., Kaul, P. (1982) Isolation of phosphate dissolving soil *Actinomycetes*. *Current Science*, 51,117-118.
- Rothrock, C. S., & Gottlieb, D. (1981) Importance of antibiotic production in antagonism of selected *Streptomyces* species to two soil-borne plant pathogens. *The Journal of Antibiotics*, 34, 830-835.

- Routledge, E. J., & Sumpter, J. P. (1996) Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15, 241-248.
- Roy, R. N., Laskar, S., Sen, S. K. (2006) Dibutyl phthalate, the bioactive compound produced by *Streptomyces albidoflavus* 321.2. *Microbiological Research*, 161, 121-126.
- RStudio Team (2015) RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>
- Sanglier, J. J., Haag, H., Huck, T. A., Fehr, T. (1996) Section Review; Anti-infectives: Review of *Actinomycetes* compounds 1990–1995. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 5, 207-223.
- Sanseverino, J., Gupta, R. K., Layton, A.C., Patterson, S.S., Ripp, S.A., Saidak, L., Simpson, M.L., Schultz, T.W., Sayler, G.S. (2005) Use of *Saccharomyces cerevisiae* BLYES Expressing Bacterial Bioluminescence for Rapid, Sensitive Detection of Estrogenic Compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 4455-4460.
- Sanseverino, J., Eldrige, M.L., Layton, A. C., Easter, J.P., Yarbrough, J., Schultz, T. W., Sayler, G. S. (2009) Screening of potentially Hormonally Active Chemicals using Bioluminescent Yeast Bioreporters. *Toxicological Sciences*, 107, 122-134.
- Schaeffer, P. (1969) Sporulation and the production of antibiotics, exoenzymes, and exotoxins. *Bacteriological Reviews*, 33, 48-71.
- Schimana, J., Fiedler, H. P., Groth, I., Submuth, R., Beil, W., Walker, M., Zeeck, A. (2000) Simocyclinones, Novel Cytostatic Angucyclinone Antibiotics Produced by *Streptomyces antibioticus* Tue 6040. I. Taxonomy, Fermentation, Isolation and Biological Activities. *The Journal of Antibiotics*, 53, 779-787.
- Scott, P. M., in: Chelkowski, J. (szerk.) (1991) *Cereal Grain Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage*, (Vol. 26). Elsevier, 529-572.
- Shetty, P. H., & Jespersen, L. (2006) *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 48-55.
- Shimizu, K. I., & Tamura, G. (1981) Reductiomycin, a new antibiotic I. Taxonomy, fermentation, isolation, characterization and biological activities. *The Journal of Antibiotics*, 34, 649-653.
- Shiroza, T., Ebisawa, N., Furihata, K., Endō, T., Seto, H., Ōtake, N. (1982) Isolation and structures of new peptide antibiotics, cirratiomycin A and B. *Agricultural and Biological Chemistry*, 46, 865-867.
- Shoman, S. A., Abd-Allah, N. A., El-Baz, A. F. (2003) Induction of resistance to *Tobacco necrosis virus* in bean plants by certain microbial isolates. *Egyptian Journal of Biology*, 5, 10-18.
- Shomura, T., Yoshida, J., Amano, S., Kojima, M., Inouye, S., Niida, T. (1979) Studies on *Actinomycetales* producing antibiotics only on agar culture. I. Screening, taxonomy and morphology-productivity relationship of *Streptomyces halstedii*, strain SF-1993. *The Journal of Antibiotics*, 32, 427-435.
- Simon, D. M., Koenig, G., Trenholme, G. M. (1991) Differences in release of tumor necrosis factor from THP-1 cells stimulated by filtrates of antibiotic-killed *Escherichia coli*. *Journal of Infectious Diseases*, 164, 800-802.

- Singh, N., & Rai, V. (2013) In vitro antimycotic activity of a new isolate *Streptomyces fradiae* MTCC 11051 against the multi-drug resistant pathogenic fungi. *Journal of Pharmacy Research*, 7, 331-336.
- Smiley, R.D., & Draughon, F.A. (2000) Preliminary evidence that degradation of aflatoxin-B1 by *Flavobacterium aurantiacum* is enzymatic. *Journal of Food Protection*, 63, 415-418.
- Snipes, C. E., Chang, C. J., Floss, H. G. (1979) Biosynthesis of the antibiotic granaticin. *Journal of the American Chemical Society*, 101, 701-706.
- Sonenshein, A. L., Hoch, J. A., Losick, R. (2002) *Bacillus subtilis* and its closest relatives. From genes to cells. ASM Press American Society for Microbiology 1752 N Street, N. W. Washington, DC 20036-2904. 5 p.
- Stackebrandt, E., & Schumann, P. (2006) Introduction to the taxonomy of *Actinobacteria*. In: *The prokaryotes* (pp. 297-321). Springer New York.
- Sugita, M., Natori, Y., Sasaki, T., Furihata, K., Shimazu, A., Seto, H., Otake, N. (1982) Studies on mycotrienin antibiotics, a novel class of ansamycins. I. Taxonomy, fermentation, isolation and properties of mycotrienins I and II. *The Journal of Antibiotics*, 35, 1460-1466.
- Sun, X., He, X., Li, Y., Xu, D., Qian, H. (2014) Biological detoxification of zearalenone by *Aspergillus niger* strain FS10. *Food and Chemical Toxicology* 72, 76-82.
- Sun, L., Wang, S., Zhang, S., Shao, L., Zhang, Q., Skidmore, C., Chang, C.t., Yu. , D., Zhan, J. (2016) Characterization of three tailoring enzymes in dutomycin biosynthesis and generation of a potent antibacterial analogue. *ACS Chemical Biology*, 11, 1992-2001.
- Szabó I. M. (1998) A bioszféra mikrobiológiája IV. kötet, A környezet-mikrobiológia vizsgáló módszerei I., Akadémia Kiadó, Budapest. 394-447 p.
- Szabó I. M. (2008) Az általános talajtan biológiai alapjai, Harmadik kiegészített kiadás, Mundus Magyar Egyetemi Kiadó, Budapest. 30-112 p.
- Szabó, I. M. (2011) Szénhidrogénekkal szennyezett területek mikroba populációjának jellemzése, Doktori (PhD) értekezés, Gödöllő
- Szoboszlay S., & Kriszt B. (2010) Környezeti elemek védelme, Szent István Egyetemi Kiadó
- Szoboszlay S., Török G., Kriszt B., Rúzs-Molnár S. (1995) Nem patogén mikroorganizmusok alkalmazása szénhidrogénnel szennyezett területek környezetkímélő mentesítésére. *Biotechnológia és Környezetvédelem Ma és Holnap*, 9, 34-37.
- Tajima, O., Schoen, E. D., Feron, V. J., Groten, J. P. (2002) Statistically designed experiments in a tiered approach to screen mixtures of *Fusarium* mycotoxins for possible interactions. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 685-695.
- Takahashi-Ando, N., Kimura, M., Kakeya, H., Osada, H., Yamaguchi, I. (2002) A novel lactonohydrolase responsible for the detoxification of zearalenone: enzyme purification and gene cloning. *Biochemical Journal*, 365, 1-6.
- Takahashi-Ando, N., Ohsato, S., Shibata, T., Hamamoto, H., Yamaguchi, I., Kimura, M. (2004) Metabolism of Zearalenone by Genetically Modified Organisms Expressing the Detoxification Gene from *Clonostachys rosea*. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 3239-3245.

- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 2731-2739.
- Taylor, M.C., Jackson, C.J., Tattersall, D.B., French, N., Peat, T.S., Newman, J., Briggs, L.J., Lapalikar, G.V., Campbell, P.M., Scott, C., Russell, R.V., Oakeshott, J.G. (2010) Identification and characterization of two families of F420H2-dependent reductases from *Mycobacteria* that catalyse aflatoxin degradation. *Molecular Microbiology*, 78,561-575.
- Teniola, O.D., Addo, P.A., Brost, I.M., Färber, P., Jany, K-D., Alberts, J.F., Van Zyl, W.H., Steyn, P.S., Holzapfel, W.H. (2005) Degradation of aflatoxin-B1 by cell-free extracts of *Rhodococcus erythropolis* and *Mycobacterium fluoranthenivorans* sp. nov. DSM44556. *International Journal of Food Microbiology*, 105, 111–117.
- Tindall, B. J., Rosselló-Mora, R., Busse, H. J., Ludwig, W., Kämpfer, P. (2010) Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 249-266.
- Tinyiro, S.E., Wokadala, C., Xu, D., Yao, W. (2011) Adsorption and degradation of zearalenone by *Bacillus* strains. *Folia Microbiologica*, 56, 321-327.
- Usuki, H., Nitoda, T., Ichikawa, M., Yamaji, N., Iwashita, T., Komura, H., Kanzaki, H. (2008) TMG-chitotriomycin, an enzyme inhibitor specific for insect and fungal β -N-acetylglucosaminidases, produced by actinomycete *Streptomyces anulatus* NBRC 13369. *Journal of the American Chemical Society*, 130, 4146-4152.
- Varga, J., Frisvad, J. C., Kocsubé, S., Brankovics, B., Tóth, B., Szigeti, G., Samson, R. A. (2011) New and revisited species in *Aspergillus* section *Nigri*. *Studies in Mycology*, 69, 1-17.
- Vekiru, E., Fruhauf, S., Rodrigues, I., Ottner, F., Krska, R., Schatzmayr, G., Ledoux, D.R., Rottinghaus, G.E., Bermudez, A.J. (2015) In vitro binding assessment and in vivo efficacy of several adsorbents against aflatoxin-B1. *World Mycotoxin Journal*, 8, 477-488.
- Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G. F., Chater, K. F., Van Sinderen, D. (2007) Genomics of *Actinobacteria*: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71, 495-548.
- Verheecke, C., Liboz, T., Anson, P., Diaz, R., Mathieu, F. (2015) Reduction of aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in interaction with *Streptomyces*. *Microbiology*, 161, 967-972.
- Verheecke, C., Liboz, T., Mathieu, F. (2016) Microbial degradation of aflatoxin-B1: Current status and future advances. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 1-9.
- Waksman, S. A. (1952) Streptomycin: background, isolation, properties, and utilization. Nobel Lecture.
- Waksman, S. A., Romano, A. H., Lechevallier, H., Raubitschek, F. (1952) Antifungal antibiotics. *Bulletin of the World Health Organization*, 6, 163.
- Walsh, C. (2003) Antibiotics. *American Society of Microbiology*.
- Wang, X. H., Ou, L., Fu, L. L., Zheng, S., Lou, J. D., Gomes-Laranjo, J., Li, J., Zhang, C. (2013) Detoxification of *Jatropha curcas* kernel cake by a novel *Streptomyces fimicarius* strain. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 238-246.

- Watve, M. G., Tickoo, R., Jog, M. M., Bhole, B. D. (2001) How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? Archives of Microbiology, 176, 386-390.
- Wegener, H. C. (2003) Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. Current Opinion in Microbiology, 6, 439-445.
- Weitnauer, G., Mühlenweg, A., Trefzer, A., Hoffmeister, D., Süßmuth, R. D., Jung, G., Welzel, K., Vente, A., Girreser, U., Bechthold, A. (2001) Biosynthesis of the orthosomycin antibiotic avilamycin A: deductions from the molecular analysis of the avi biosynthetic gene cluster of *Streptomyces viridochromogenes* Tü57 and production of new antibiotics. Chemistry & Biology, 8, 569-581.
- Wild, C. P., & Gong, Y. Y. (2010) Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. Carcinogenesis, 31, 71-82.
- Williams, ST. (1978) *Streptomyces* in soil ecosystems. In: Mordarski, M., Kuryloicz, W. and Jeljaszewicz J. (szerk.) *Nocardia and Streptomyces* Gustav Fischer Verlag. New York.,pp. 137-144.
- Withanage, G. S., Murata, H., Koyama, T., Ishiwata, I. (2001) Agonistic and antagonistic effects of zearalenone, an estrogenic mycotoxin, on SKN, HHUA, and HepG2 human cancer cell lines. Veterinary and Human Toxicology, 43, 6-10.
- Woodbine, M. (1977) Antibiotics and antibiosis in agriculture. Butterworth-Heinemann.
- Wu, F. (2004) Mycotoxin risk assessment for the purpose of setting international regulatory standards. Environmental Science And Technology, 38, 4049-4055.
- Xia, X., Zhang, Y., Li, M., Garba, B., Zhang, Q., Wang, Y., Zhang, H., Li, P. (2016) Isolation and characterization of a *Bacillus subtilis* strain with aflatoxin-B1 biodegradation capability. Food Control, 72, 92-98.
- Xu, H.H. & Schurr, K.M. (1990) Genotoxicity of 22 pesticides in microtitration SOS Chromoteszt. Toxicity Assessment, 5, 1-14.
- Yekkour, A., Sabaou, N., Zitouni, A., Errakhi, R., Mathieu, F., Lebrihi, A. (2012) Characterization and antagonistic properties of *Streptomyces* strains isolated from Saharan soils, and evaluation of their ability to control seedling blight of barley caused by *Fusarium culmorum*. Letters in Applied Microbiology, 55, 427-435.
- Yoshimoto, A., Ogasawara, T., Kitamura, I., Oki, T., Inui, T., Takeuchi, T., Umezawa, H. (1979) Enzymatic conversion of aclacinomycin A to Y by a specific oxidoreductase in *Streptomyces*. The Journal of Antibiotics, 32, 472-481.
- Yu, Y., Wu, H., Tang, Y., Qiu, L. (2012) Cloning, expression of a peroxiredoxin gene from *Acinetobacter* sp. SM04 and characterization of its recombinant protein for zearalenone detoxification. Microbiological Research, 167, 121-126.
- Zhao, L. H., Guan, S., Gao, X., Ma, Q. G., Lei, Y. P., Bai, X. M., Ji, C. (2011) Preparation, purification and characteristics of an aflatoxin degradation enzyme from *Myxococcus fulvus* ANSM068. Journal of Applied Microbiology, 110, 147-155.
- Zhao, K., Penttinen, P., Chen, Q., Guan, T., Lindström, K., Ao, X., Zhang, L. Zhang, X. (2012) The rhizospheres of traditional medicinal plants in Panxi, China, host a diverse selection of *Actinobacteria* with antimicrobial properties. Applied Microbiology and Biotechnology, 94, 1321-1335.

Zhu, H. H., Guo, J., Yao, Q., Yang, S. Z., Deng, M. R., Li, T. H. (2011) *Streptomyces caeruleatus* sp. nov., with dark blue diffusible pigment. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 61, 507-511.

Zi-han, Z., Jun-ying, L., Xiao-yan, Y. (2003) SIIA-C2191-A and B, novel polycyclic xanthone antibiotics produced by *Streptomyces flavogriseus* I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. Chinese Journal of Antibiotics, 28, 627-632.

Internetes hivatkozások

http1: http://home.hiroshima-u.ac.jp/mbiotech/hosenkin_lab/Strepto-E.html

http2: https://www.biomol.com/product_Aflatoxin-M1.html?aRelated=LKT-A2052

http3: <http://www.oek.hu/oek.web?nid=666&pid=10>

http4: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en/>

MELLÉKLET 2.Az identifikált *Streptomyces* törzsek nevei és a fajokhoz tartozó törzsek száma.

Identifikált faj	törzsek száma	Identifikált faj	törzsek száma
<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	16	<i>Streptomyces marokkonensis</i>	2
<i>Streptomyces anulatus</i>	12	<i>Streptomyces microflavus</i>	2
<i>Streptomyces zaomyeticus</i>	12	<i>Streptomyces mutabilis</i>	2
<i>Streptomyces galilaeus</i>	11	<i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	2
<i>Streptomyces flaveolus</i>	9	<i>Streptomyces phaeoluteigriseus</i>	2
<i>Streptomyces althioticus</i>	8	<i>Streptomyces pilosus</i>	2
<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	8	<i>Streptomyces rangoonensis</i>	2
<i>Streptomyces brevispora</i>	7	<i>Streptomyces tendae</i>	2
<i>Streptomyces seoulensis</i>	7	<i>Streptomyces violaceoruber</i>	2
<i>Streptomyces setonii</i>	7	<i>Streptomyces violaceus</i>	2
<i>Streptomyces spiroverticillatus</i>	7	<i>Streptomyces violarus</i>	2
<i>Streptomyces tanashiensis</i>	7	<i>Streptomyces yanii</i>	2
<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	7	<i>Streptomyces yokosukanensis</i>	2
<i>Streptomyces albidoflavus</i>	6	<i>Streptomyces albovinaceus</i>	1
<i>Streptomyces canus</i>	6	<i>Streptomyces albus</i>	1
<i>Streptomyces exfoliatus</i>	6	<i>Streptomyces antibioticus</i>	1
<i>Streptomyces flavovirens</i>	6	<i>Streptomyces avidinii</i>	1
<i>Streptomyces rubrogriseus</i>	6	<i>Streptomyces baarnensis</i>	1
<i>Streptomyces atroolivaceus</i>	5	<i>Streptomyces badius</i>	1
<i>Streptomyces cacaoi subsp. cacaoi</i>	5	<i>Streptomyces baliensis</i>	1
<i>Streptomyces cellulosa</i>	5	<i>Streptomyces caeruleatus</i>	1
<i>Streptomyces drozdowiczii</i>	5	<i>Streptomyces caniferus</i>	1
<i>Streptomyces finlayi</i>	5	<i>Streptomyces cavourensis</i>	1
<i>Streptomyces mutomycini</i>	5	<i>Streptomyces cinereoruber</i>	1
<i>Streptomyces sanglieri</i>	5	<i>Streptomyces cinereoruber subsp. fructofermentans</i>	1
<i>Streptomyces violaceolatus</i>	5	<i>Streptomyces cirratus</i>	1
<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	5	<i>Streptomyces coelescens</i>	1
<i>Streptomyces xanthophaeus</i>	5	<i>Streptomyces collinus</i>	1
<i>Streptomyces diastaticus</i>	4	<i>Streptomyces decoyicus</i>	1
<i>Streptomyces glomeroaurantiacus</i>	4	<i>Streptomyces flavidovirens</i>	1
<i>Streptomyces halstedii</i>	4	<i>Streptomyces flavolimosus</i>	1
<i>Streptomyces hydrogenans</i>	4	<i>Streptomyces fulvorobeus</i>	1
<i>Streptomyces olivaceoviridis</i>	4	<i>Streptomyces gancidicus</i>	1
<i>Streptomyces rimosus</i>	4	<i>Streptomyces geysirinesis</i>	1
<i>Streptomyces rishiriensis</i>	4	<i>Streptomyces gibsonii</i>	1
<i>Streptomyces rubiginosohelvolus</i>	4	<i>Streptomyces gougerotii</i>	1
<i>Streptomyces albogriseolus</i>	3	<i>Streptomyces griseoaurantiacus</i>	1
<i>Streptomyces albus subsp. albus</i>	3	<i>Streptomyces griseobrunneus</i>	1
<i>Streptomyces bobili</i>	3	<i>Streptomyces intermedius</i>	1
<i>Streptomyces cinereorectus</i>	3	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	1
<i>Streptomyces flavogriseus</i>	3	<i>Streptomyces lateritius</i>	1
<i>Streptomyces gardneri</i>	3	<i>Streptomyces lincolnensis</i>	1
<i>Streptomyces globisporus</i>	3	<i>Streptomyces litmocidini</i>	1
<i>Streptomyces humidus</i>	3	<i>Streptomyces lohii</i>	1
<i>Streptomyces matensis</i>	3	<i>Streptomyces longwoodenesis</i>	1

Identifikált faj	törzsek száma	Identifikált faj	törzsek száma
<i>Streptomyces prasinus</i>	3	<i>Streptomyces minoensis</i>	1
<i>Streptomyces umbrinus</i>	3	<i>Streptomyces niveus</i>	1
<i>Streptomyces albolongus</i>	2	<i>Streptomyces omiyaensis</i>	1
<i>Streptomyces atratus</i>	2	<i>Streptomyces phaeofaciens</i>	1
<i>Streptomyces aureus</i>	2	<i>Streptomyces phyllosphaerae</i>	1
<i>Streptomyces bottropensis</i>	2	<i>Streptomyces prunicolor</i>	1
<i>Streptomyces bungoensis</i>	2	<i>Streptomyces rutgersensis</i>	1
<i>Streptomyces cacaoi subsp. asoensis</i>	2	<i>Streptomyces sampsonii</i>	1
<i>Streptomyces cinnamonensis</i>	2	<i>Streptomyces spectabilis</i>	1
<i>Streptomyces coelicoflavus</i>	2	<i>Streptomyces speiboane</i>	1
<i>Streptomyces diastaticus subsp. ardesiacus</i>	2	<i>Streptomyces sporoverrucosus</i>	1
<i>Streptomyces djakartensis</i>	2	<i>Streptomyces tauricus</i>	1
<i>Streptomyces europaeiscabiei</i>	2	<i>Streptomyces turgidiscabies</i>	1
<i>Streptomyces fradiae</i>	2	<i>Streptomyces vinaceus</i>	1
<i>Streptomyces griseorubiginosus</i>	2	<i>Streptomyces violaceorubidus</i>	1
<i>Streptomyces griseus subsp. griseus</i>	2	<i>Streptomyces violascens</i>	1
<i>Streptomyces heliomycini</i>	2	<i>Streptomyces viridodiastaticus</i>	1
<i>Streptomyces laceyi</i>	2	<i>Streptomyces wedmorensis</i>	1
<i>Streptomyces lavendulae</i>	2	<i>Streptomyces xanthochromogenes</i>	1
<i>Streptomyces luteogriseus</i>	2		

MELLÉKLET 3.

A 380 *Streptomyces* törzs különböző hőmérsékleti értékeken, kétféle közegben (szilárd, illetve folyékony GYM táptalajon) mutatott növekedése, továbbá a pigmenttermelése és telepszíne szilárd táptalajon, valamint a spóratermelése látható. Jelmagyarázat: N/A=nincs adat, növekedés:(-) nincs; (-+) gyenge; (+) normál; (++) jó; (+++) rendkívül jó; (p)= pigmenttermelés, (F=fertőzött, vagy nem homogén).

törzs jele	identifikált faj	szilárd táptalaj (GYM)			folyékony tápleves (GYM)			pigment-termelés szilárd táptalajon	telepszín	spóratermelés
		T24°C	T28°C	T45°C	T24°C	T28°C	T45°C			
K2	<i>Streptomyces heliomycini</i>	N/A	+++	-	N/A	N/A	N/A	zöld	barnás-szürkés	van
K5	<i>Streptomyces fradiae</i>	N/A	-	-	N/A	N/A	N/A	pirosas	barnás-szürkés	van
K6	<i>Streptomyces laceyi</i>	N/A	+++	-	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	van
K8	<i>Streptomyces lavendulae</i>	N/A	++	-	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	nincs
K9	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	N/A	+++	-	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	van
K14	<i>Streptomyces cavourensis</i>	N/A	+++	-	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	van
K15	<i>Streptomyces albus</i>	N/A	+++	-	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	van
K18	<i>Streptomyces fradiae</i>	N/A	+++	-	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	van
K20	<i>Streptomyces zaomycticus</i>	N/A	++	-	N/A	N/A	N/A	barna	barnás-szürkés	van
K21	<i>Streptomyces cellulosa</i>	N/A	-	-	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	van
K22	<i>Streptomyces phyllosphaerae</i>	N/A	+	-	N/A	N/A	N/A	barna	barnás-szürkés	van
K23	<i>Streptomyces olivaceoviridis</i>	N/A	++	-	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	van
K25	<i>Streptomyces djakartensis</i>	++	++	N/A	-+	+++	+	nincs	barnás-szürkés	van
K26	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	++	+++	N/A	+	-	-	sárgás	barnás-szürkés	van
K27	<i>Streptomyces antibioticus</i>	+++	+++	N/A	-+	++	-	barna	barnás-szürkés	van
K28	<i>Streptomyces galilaeus</i>	+++	+++	N/A	-+	++	-	sötétbarna	barnás-szürkés	nincs
K29	<i>Streptomyces zaomycticus</i>	+++	-	N/A	-	+++	-+	világosbarna	barnás-szürkés	van
K30	<i>Streptomyces tauricus</i>	+	-+	N/A	-+	++	-+	barna	barnás-szürkés	van
K31	<i>Streptomyces olivochromogenes</i>	++	+	N/A	-+	-+	-+	barna	barnás-szürkés	van
K32	<i>Streptomyces tanashiensis</i>	++++	+++	N/A	+	++	++	nincs	barnás-szürkés	van
K35	<i>Streptomyces albovinaceus</i>	-	+++	N/A	-+	-	-+	sárgás-barna	barnás-szürkés	nincs
K36	<i>Streptomyces turgidiscabies</i>	+++	++	N/A	++	-	+	barna	barnás-szürkés	van
K37	<i>Streptomyces cacaui subsp. asoensis</i>	++	++	-	++	++	-	barna	barnás-szürkés	van
K38	<i>Streptomyces gardneri</i>	++	++	-	++	+	-	aranybarna	barnás-szürkés	nincs
K39	<i>Streptomyces cellulosa</i>	-	+	-	-	+	-	nincs	barnás-szürkés	nincs
K40	<i>Streptomyces mutomycini</i>	+	+	-	++	+	-	nincs	barnás-szürkés	van
K41	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	+++	+++	-	++	++	-	sárga	barnás-szürkés	van
K43	<i>Streptomyces microflavus</i>	+++	+++	-	++	+	-	nincs	barnás-szürkés	van
K44	<i>Streptomyces ganadicus</i>	+	+++	+++	++	++	-	rozsdabarna	barnás-szürkés	van
K45	<i>Streptomyces rishiriensis</i>	++	+++	-	++	++	-	nincs	barnás-szürkés	nincs
K46	<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	++	+++	++	+	-	-	sárga	barnás-szürkés	van
K47	<i>Streptomyces europaeiscabiei</i>	++	+	-	+	+	-	sárgás-barna	barnás-szürkés	van
K49	<i>Streptomyces griseobrunneus</i>	++	+++	-	++	+++	-	nincs	barnás-szürkés	van
K50	<i>Streptomyces globisporus</i>	++	++	-	-+	+	-	nincs	barnás-szürkés	van
K51	<i>Streptomyces lohii</i>	+	+++	-	-	-	-	barna	barnás-szürkés	van
K52	<i>Streptomyces microflavus</i>	++	++	-	++	-	-	sárgás-zöldes	barnás-szürkés	van
K53	<i>Streptomyces flavogriseus</i>	++	+++	-	-+	-	-	zöldes-barna	barnás-szürkés	van
K54	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	++	++	-	++	-	-	sárga	barnás-szürkés	nincs
K56	<i>Streptomyces avidinii</i>	+	+	-	-+	-	-	barna	barnás-szürkés	van
K57	<i>Streptomyces anulatus</i>	++	++	-	-+	-+	-	zöldes-sárga	barnás-szürkés	van
K58	<i>Streptomyces laceyi</i>	+	+	-	-+	-	-	zöldes-sárga	barnás-szürkés	van
K59	<i>Streptomyces niveus</i>	-	-+	-	-	-	-	nincs	barnás-szürkés	nincs
K68	<i>Streptomyces anulatus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	sárgás	van
K73	<i>Streptomyces baliensis</i>	+	+	-	++	++	-	nincs	sárgás	van
K74	<i>Streptomyces gougerotii</i>	+	++	-	++	+	-	nincs	barnás-szürkés	van
K75	<i>Streptomyces rutgersensis</i>	+	++	-	++	+	-	nincs	barnás-szürkés	van
K76	<i>Streptomyces flavolimosus</i>	+++	+++	-	++	++	++	nincs	barnás-szürkés	van

törzs jele	identifikált faj	szilárd táptalaj (GYM)			folyékony tápleves (GYM)			pigment-termelés szilárd táptalajon	telepszín	spóratermelés
		T24°C	T28°C	T45°C	T24°C	T28°C	T45°C			
K80	<i>Streptomyces halstedii</i>	++	++	-	++	+	-	nincs	barnás-szürkés	nincs
K86	<i>Streptomyces flavogriseus</i>	++	+	-	++	++	-	zöldes-szürkés	barnás-szürkés	van
K87	<i>Streptomyces flavogriseus</i>	+++	+++	-	++	+++	-	nincs	barnás-szürkés	van
K88	<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	+++	+++	+++	++	+++	+++	nincs	sárgás	van
K89	<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	++	+++	+++	++	+++	+++	nincs	sárgás-barna	nincs
K91	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	+++	+++	-	+++	+++	-	sárgás	barnás-szürkés	van
K92	<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	+	+++	+++	++	++	++	nincs	sárgás-rózsaszín	nincs
K93	<i>Streptomyces albus subsp. albus</i>	-	++	+++	-	+	++	nincs	barnás-szürkés	van
K94	<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	+	+++	+++	+++	+++	++	sárgás (44°C)	zöldes-szürke	van
K95	<i>Streptomyces globisporus</i>	+	+++	+++	+	++	++	nincs	sárgás	nincs
K96	<i>Streptomyces minoensis</i>	+	+++	-	+++	++	-	nincs	barnás-szürkés	nincs
K98	<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	++	+++	+++	+++	+++	++	barna (24°C)	sárgás-barna(28°C)	van
K100	<i>Streptomyces gibsonii</i>	-	-	-	++	++	++	nincs	nincs	nincs
K101	<i>Sterptomyces wedmorensis</i>	+++	++	-	++	+	-	nincs	sárgás	van
K102	<i>Streptomyces olivochromogenes</i>	++	+++	-	+++	+++	-	nincs	szürkés(24°C)	van
K103	<i>Streptomyces rangoonensis</i>	-	+	+++	-	+	++	nincs	sárgás	van
K104	<i>Streptomyces mutomycini</i>	++	+++	-	++	++	-	nincs	sárgás	van
K105	<i>Streptomyces albus subsp. albus</i>	-	+++	+++	-	-	++	nincs	sárgás	van
K106	<i>Streptomyces rubiginosohelvolus</i>	++	+++	-	+++	+	++	nincs	sárgás	van
K107	<i>Streptomyces halstedii</i>	++	++	-	+++	++	-	nincs	sárga	van
K108	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	++	-	++	+	-	nincs	zöldes-sárga	van
K109	<i>Streptomyces xanthochromogenes</i>	-	-	-	-	+	-	nincs	nincs	nincs
K110	<i>Streptomyces rubiginosohelvolus</i>	++	+++	-	++	++	-	nincs	sárgás	van
K111	<i>Streptomyces rangoonensis</i>	++	++	-	-	-	-	nincs	sárgás	van
K112	<i>Streptomyces rubiginosohelvolus</i>	++	++	-	+	++	-	nincs	sárgás	van
K113	<i>Streptomyces violascens</i>	+	+	-	-	-	-	nincs	fényes sárga	nincs
K114	<i>Streptomyces tanashiensis</i>	+++	+++	-	++	++	-	zöldes	sárga	van
K115	<i>Streptomyces tanashiensis</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	sárga	van
K116	<i>Streptomyces baarnensis</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	zöld	van
K117	<i>Streptomyces tanashiensis</i>	++	++	-	++	+++	-	nincs	sárga	van
K118	<i>Streptomyces spiroverticillatus</i>	++	++	-	+	++	-	világos sárga	sárga	nincs
K119	<i>Streptomyces tanashiensis</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	sárga	van
K120	<i>Streptomyces tanashiensis</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	sárga	van
K121	<i>Streptomyces atroolivaceus</i>	+	+	-	++	+++	-	nincs	fehér	nincs
K122	<i>Streptomyces olivochromogenes</i>	+	+	-	+	+	-	barna	sárgás	nincs
K123	<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	+	++	-	+	++	-	barna	sárga	nincs
K124	<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	++	+++	-	++	++	-	barna	krémfehér	nincs
K125	<i>Streptomyces spectabilis</i>	++	+++	+++	++	++	++	nincs	sárgás barna	nincs
K126	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	+++	+++	-	++	++	-	barna	krémfehér	van
K127	<i>Streptomyces tanashiensis</i>	+++	+++	-	++	++	-	nincs	krémfehér	van
K128	<i>Streptomyces spiroverticillatus</i>	+++	+++	-	+	+	-	nincs	krémfehér	van
K129	<i>Streptomyces violarus</i>	+	+	-	++	++	-	sárgás zöldes	sárgás barna	van
K130	<i>Streptomyces halstedii</i>	++	+	-	+++	+++	-	nincs	sárgás barna	van
K131	<i>Streptomyces yokosukanensis</i>	++	+	-	++	+++	-	zöldes	sárgás zöldes	van
K132	<i>Streptomyces glomeroaurantiacus</i>	+	+	-	+	+	-	sárgás barnás	barnás	van
K133	<i>Streptomyces drozdowiczii</i>	++	+	-	+++	++	-	nincs	sárgás	van
K135	<i>Streptomyces tendae</i>	++	+++	-	+++	+++	-	nincs	sárgás	van
K136	<i>Streptomyces violaceoruber</i>	++	+++	-	+++	+++	-	nincs	feketés barnás	van
K137	<i>Streptomyces violaceoruber</i>	+	+	-	+++	++	-	nincs	sárgás	van
K138	<i>Streptomyces althioticus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	nincs	sárgás	van
K139	<i>Streptomyces sanglieri</i>	+++	++	-	++	++	-	mályva	rozsdá barna	van
K140	<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	++	++	-	+++	++	-	sárgás-zöldes	barna	van
K141	<i>Streptomyces rishiriensis</i>	+	+	-	++	+	-	világos barna	barna	van
K143	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	+++	+++	-	+++	++	-	nincs	világos barna	van
K144	<i>Streptomyces luteogriseus</i>	+++	+++	-	+++	+++	-	világos barna	barna	van
K145	<i>Streptomyces rimosus</i>	+	+	-	+	++	-	sárgás	sárga	van

törzs jele	identifikált faj	szilárd táptalaj (GYM)			folyékony tápleves (GYM)			pigment-termelés szilárd táptalajon	telepszín	spórateermelés
		T24°C	T28°C	T45°C	T24°C	T28°C	T45°C			
		K148	<i>Streptomyces rimosus</i>	+	+++	-	++			
K149	<i>Streptomyces exfoliatus</i>	+++	++	-	+	++	-	nincs	sárga	van
K151	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	+++	+++	-	-	++	-	nincs	barna	van
K152	<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	++	++	-	++	++	-	sárgás	barnás sárga	nincs
K153	<i>Streptomyces violaceorubidus</i>	+++	+++	-	++	++	-	nincs	sárga	van
K154	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	+++	++	-	+	++	-	nincs	sárga	van
K155	<i>Streptomyces rimosus</i>	+	+	-	++	+	-	nincs	ságás	van
K156	<i>Streptomyces atratus</i>	+++	++	-	++	++	-	nincs	sötét barna	van
K157	<i>Streptomyces rishiriensis</i>	++	+++	-	+	+	-	barnás	barna	nincs
K159	<i>Streptomyces exfoliatus</i>	+++	+++	-	+	++	-	nincs	sárgás	nincs
K160	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	++	-	-	++	++	-	barnás	barna	nincs
K162	<i>Streptomyces canus</i>	++	++	-	++	++	-	barna	barnás	van
K163	<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	++	++	-	++	++	-	világos barna	sötét barna	van
K165	<i>Streptomyces canus</i>	++	++	-	++	+	-	világos barna	sárgás barna	nincs
K166	<i>Streptomyces aureus</i>	++	+	-	+	+	-	nincs	vöröses barna	van
K167	<i>Streptomyces brevispora</i>	+	-	-	+	-	-	nincs	sárgás barna	nincs
K168	<i>Streptomyces flavovirens</i>	++	++	-	+	+	-	nincs	kénes sárga	nincs
K170	<i>Streptomyces canus</i>	+++	+++	-	++	+	-	nincs	rozsdá b/sötét b	van
K171	<i>Streptomyces lincolnensis</i>	+++	+++	-	+++	+++	-	nincs	sárga	van
K172	<i>Streptomyces heliomycini</i>	+++	+++	-	+++	+++	-	nincs	zöldes sárga	van
K173	<i>Streptomyces lateritius</i>	+++	+++	-	+++	+++	-	alma zöld	sárga	van
K174	<i>Streptomyces anulatus</i>	++	++	-	++	+	-	nincs	fehéres sárgás	van
K176	<i>Streptomyces caniferus</i>	+++	+++	-	+++	++	-	nincs	vajsárga	van
K177	<i>Streptomyces marokkonensis</i>	+++	++	-	+++	++	-	nincs	világos barna	van
K178	<i>Streptomyces bottropensis</i>	++	++	-	++	-	-	mogyoró	drapp	van
K179	<i>Streptomyces setonii</i>	++	++	-	+++	++	-	nincs	lépes sárgás	van
K180	<i>Streptomyces canus</i>	+	++	-	++	++	+	nincs	drapp	nincs
K181	<i>Streptomyces gardneri</i>	++	++	-	+++	++	-	nincs	csontszínű	van
K182	<i>Streptomyces canus</i>	++	++	-	+++	++	-	sötétbarna	mogyoró barna	van
K183	<i>Streptomyces anulatus</i>	++	++	-	+	+	-	nincs	zöld	van
K184	<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	++	++	-	++	++	-	barna	sötét barna	van
K186	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	vajszínű	nincs
K187	<i>Streptomyces pilosus</i>	+++	+++	++	++	++	-	barna	világos barna	van
K188	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	+++	+++	-	++	+++	-	sárga	sárga	van
K189	<i>Streptomyces rimosus</i>	+	+	-	+	+	-	nincs	sárga	nincs
K190	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	zöld	van
K191	<i>Streptomyces flavovirens</i>	+++	+++	-	++	++	-	zöld	sötét zöld	van
K194	<i>Streptomyces anulatus</i>	++	++	-	+++	++	-	nincs	citrom sárga	van
K195	<i>Streptomyces anulatus</i>	+++	+++	-	+++	++	-	nincs	citrom sárga	van
K196	<i>Streptomyces bottropensis</i>	++	++	-	+(P)	++(P)	-	barna	világos barna	nincs
K197	<i>Streptomyces violaceolatus</i>	+++	+++	-	++	++	-	nincs	vajszínű	van
K198	<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	+	+	-	+(P)	+(P)	-	enyhe sárgás	barna	van
K199	<i>Streptomyces bobili</i>	++	++	-	-	+	-	szürkés zöldes	világos barna	nincs
K200	<i>Streptomyces exfoliatus</i>	+++	+++	-	++	++	-	nincs	vajsárga	van
K201	<i>Streptomyces caeruleatus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	vajsárga	van
K202	<i>Streptomyces pilosus</i>	++	++	-	+	+	-	nincs	zöld	van
K203	<i>Streptomyces flavovirens</i>	++	++	-	+++	++	-	nincs	kénes sárga	van
K204	<i>Streptomyces cirratus</i>	++	++	-	+++	+++	-	nincs	antracit kék	van
K205	<i>Streptomyces cellulosa</i>	++	+++	++	++	++	-	citrom sárga	mézsínű/ barna	nincs
K207	<i>Streptomyces flavovirens</i>	+++	++	-	+++	++	-	nincs	kénes sárga	van
K208	<i>Streptomyces althioticus</i>	+++	++	+++	++	+++	++	nincs	bézs/szürke	van
K209	<i>Streptomyces sanglieri</i>	++	++	-	++	+++	-	rózsaszín	óz barna	van
K213	<i>Streptomyces cellulosa</i>	++	++	++	++	++	+	nincs	rozsdá barna	van
K214	<i>Streptomyces sanglieri</i>	++	++	-	+++	++	-	bordó	sötét barna	van
K215	<i>Streptomyces setonii</i>	+++	++	-	++	+++	-	nincs	vaj sárga	van
K216	<i>Streptomyces althioticus</i>	++	++	++	+	+	-	világos barna	okker sárga	van

törzs jele	identifikált faj	szilárd táptalaj (GYM)			folyékony tápleves (GYM)			pigment- termelés szilárd táptalajon	telepszín	spóratermelés
		T24°C	T28°C	T45°C	T24°C	T28°C	T45°C			
K219	<i>Streptomyces umbrinus</i>	++	+++	-	++	++	-	nincs	csontszínű	van
K220	<i>Streptomyces gardneri</i>	++	+++	-	++	++	-	nincs	csontszínű	van
K221	<i>Streptomyces luteogriseus</i>	++	++	++	+++	+++	-	nincs	csontszínű	nincs
K223	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	++	+	-	++	++	-	barna	barna	van
K224	<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	+	+	-	+	+	-	nincs	világos barna	nincs
K225	<i>Streptomyces cinnamonensis</i>	+	+	-	++(p)	++(p)	-	barna	világos barna	van
K226	<i>Streptomyces rishiriensis</i>	++	+	-	-	++	-	barna	fehér színű	nincs
K227	<i>Streptomyces europaeiscabiei</i>	+	++	-	+(p)	+(p)	-	barna	világos barna	van
K228	<i>Streptomyces viridodiataticus</i>	+++	+++	+++	++	++	+	nincs	világos barna/sárga	van
K230	<i>Streptomyces althioticus</i>	+++	+++	+++	++	++	+	nincs	csontszínű/szürke	nincs
K232	<i>Streptomyces finlayi</i>	+++	+++	-	+++	++	-	nincs	barna	van
K233	<i>Streptomyces humidus</i>	++	++	-	+	+(p)	-	világos barna	világos barna	nincs
K234	<i>Streptomyces cacaoi subsp. asoensis</i>	+	+	-	+	-	-	világos barna	csontszínű	nincs
K236	<i>Streptomyces cinereoruber</i>	++	++	-	+	+	-	nincs	vajsárga	van
K237	<i>Streptomyces litmocidini</i>	++	++	-	++	+++	-	nincs	méz-vajsága	van
K238	<i>Streptomyces olivaceoviridis</i>	+++	+++	-	++	++	-	nincs	olívzöld	van
K239	<i>Streptomyces drozdowiczii</i>	++	++	-	+	+	-	nincs	kénes sárga	van
K240	<i>Streptomyces halstedii</i>	+	+	-	-	+	-	nincs	csontszínű	van
K241	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	+++	-	++	+	-	nincs	világos barna	van
K242	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	++	++	-	-	+	-	nincs	olívzöld	van
K244	<i>Streptomyces xanthophaeus</i>	+	+	-	++	++	-	világos barna	világos barna	nincs
K245	<i>Streptomyces sporoverrucosus</i>	+	-	-	+	+	-	sárgás	csontszínű	nincs
K246	<i>Streptomyces xanthophaeus</i>	++	+	-	++(p)	+++ (p)	-	világos barna	csontszínű	nincs
K248	<i>Streptomyces xanthophaeus</i>	+++	+++	-	+++	++	-	nincs	világos barna	van
K249	<i>Streptomyces cinnamonensis</i>	++	+	-	++(p)	++	-	ságás barna	csontszínű	van
K251	<i>Streptomyces lavendulae</i>	+	+	-	++(p)	++	-	nincs	vajsínű	nincs
K252	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	++	-	+++	++	-	nincs	sárga	van
K253	<i>Streptomyces umbrinus</i>	-	+	-	-	+	-	világos barna	világos barna	nincs
K254	<i>Streptomyces vinaceus</i>	++	++	-	+++	+++	-	nincs	világos barna	van
K255	<i>Streptomyces spiroverticillatus</i>	+	+	-	-	+	-	barna	sárga	nincs
K256	<i>Streptomyces cinereorectus</i>	++	+++	-	++	++	-	nincs	vajsárga	van
K257	<i>Streptomyces flaveolus</i>	++	++	+++	++	++	+	nincs	sárga	van
K258	<i>Streptomyces bobili</i>	++	++	-	++	++	-	barna	sárgás barna	nincs
K259	<i>Streptomyces galilaeus</i>	++	++	+	++	++	-	barna	lazachús szín	nincs
K261	<i>Streptomyces atroolivaceus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	sárgászöld	van
K263	<i>Streptomyces violaceolatus</i>	++	+++	-	++	++	-	indigó kék	barna	van
K264	<i>Streptomyces sanglieri</i>	++	++	-	+++	++	-	nincs	sárga	nincs
K265	<i>Streptomyces seoulensis</i>	+++	+++	-	+++	++	-	nincs	vajsárga	van
K268	<i>Streptomyces spiroverticillatus</i>	++	++	-	++(p)	++	-	barna	barna	van
K269	<i>Streptomyces cacaoi subsp. cacaoi</i>	+	+	-	++	+++	-	nincs	sárga	van
K270	<i>Streptomyces cellulosa</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	mézsínű	sárga / sötét barna	van
K271	<i>Streptomyces diastaticus</i>	++	++	-	+++	++	-	nincs	fehér	van
K272	<i>Streptomyces rubrogriseus</i>	++	++	-	+++	++	-	nincs	sárga	van
K273	<i>Streptomyces bervispora</i>	++	+++	-	++	++	-	nincs	barna	van
K274	<i>Streptomyces rubrogriseus</i>	+++	+++	-	++	+++	-	nincs	vajsínű	van
K275	<i>Streptomyces rubrogriseus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	vajsínű	van
K276	<i>Streptomyces olivaceoviridis</i>	++	+++	-	+++	+++	-	enyhe barna	méreg zöld	van
K277	<i>Streptomyces cinereorectus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	citromsárga	nincs
K278	<i>Streptomyces cinereoruber s. fructofermentans</i>	+	+	-	+	+	-	enyhe barna	sárgás	nincs
K279	<i>Streptomyces brevispora</i>	+	++	-	++	++	-	nincs	csontszín	van
K280	<i>Streptomyces mutomycini</i>	+	+	-	+	-	-	nincs	fehères sárgás	van
K281	<i>Streptomyces flaveolus</i>	+++	+++	++	++	++	-	nincs	sárgás/lép szín	van
K282	<i>Streptomyces diastaticus</i>	+++	+++	-	+	++	-	nincs	csontszín	van
K284	<i>Streptomyces spiroverticillatus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	sötét szürke	van
K285	<i>Streptomyces brevispora</i>	++	++	-	++	+++	-	nincs	sötét szürke	van

törzs jele	identifikált faj	szilárd táptalaj (GYM)			folyékony tápleves (GYM)			pigment-termelés szilárd táptalajon	telepszín	spóratermelés
		T24°C	T28°C	T45°C	T24°C	T28°C	T45°C			
K288	<i>Streptomyces galilaeus</i>	+	+	-	-	-	-	barnás	világos barna	nincs
K289	<i>Streptomyces galilaeus</i>	++	+++	-	++(p)	++	-	barna	barna/lazacos	nincs
K290	<i>Streptomyces flaveolus</i>	+++	+++	+++	++	++	+	nincs	mézsárga	van
K291	<i>Streptomyces atroolivaceus</i>	++	++	-	++	+	-	nincs	vajsárga	nincs
K292	<i>Streptomyces flavovirens</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	vajsárga	van
K293	<i>Streptomyces mutabilis</i>	++	+++	++	++	++	+	nincs	sötét szürkés	van
K294	<i>Streptomyces mutomyicini</i>	+	+	-	+	+	-	nincs	vajsárga	nincs
K295	<i>Streptomyces finlayi</i>	++	++	-	+	+	-	nincs	vajsárga	van
K296	<i>Streptomyces decoycus</i>	++	-	-	+++	-	-	nincs	sárgás	van
K297	<i>Streptomyces cinereorectus</i>	+	++	-	+	+	-	nincs	vajsárga	van
K299	<i>Streptomyces atratus</i>	++	+++	-	++	+++	-	nincs	világos zöld	van
K300	<i>Streptomyces rubrogriseus</i>	+++	+++	-	++	++	-	nincs	szalma sárga	van
K302	<i>Streptomyces cacaoid subsp. cacaoid</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	sárga	van
K303	<i>Streptomyces bobili</i>	+++	++	-	+	++	-	nincs	mézsárga	van
K304	<i>Streptomyces cacaoid subsp. cacaoid</i>	+++	+++	-	++	++	-	kék	bordó-sárga	van
K305	<i>Streptomyces coelicoflavus</i>	++	+++	++	++	++	+	nincs	sárga/enyhe zöld	van
K306	<i>Streptomyces olivaceoviridis</i>	+++	+++	-	++	++	-	zöldes	méregzöld	van
K309	<i>Streptomyces galilaeus</i>	++	++	-	+	+	-	barna	korall/ sárga	van
K310	<i>Streptomyces violarus</i>	-	+	-	+	++	-	nincs	natúrfa szín	nincs
K311	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	+++	+++	++	+++	++	-	nincs	haragos zöld	van
K312	<i>Streptomyces albolongus</i>	+++	+++	-	+++	+++	-	nincs	aransyárga	van
K314	<i>Streptomyces cacaoid subsp. cacaoid</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	zöldes sárga	van
K315	<i>Streptomyces longwoodensis</i>	++	++	-	+++	++	+	barna	világos barna	van
K316	<i>Streptomyces finlayi</i>	++	++	-	+	+	-	nincs	vaj sárga	van
K318	<i>Streptomyces glomeroaurantiacus</i>	++	++	-	++	++	-	barna	sötét lila	van
K319	<i>Streptomyces althioticus</i>	++	++	++	++	++	+	citrom sárga	citrom sárga	van
K320	<i>Streptomyces brevispora</i>	++	++	-	+	++	-	rozsdá barna	világos barna	van
K321	<i>Streptomyces geysirinesis</i>	+++	+++	-	+++	++	-	nincs	szalma sárga	van
K323	<i>Streptomyces seoulensis</i>	++	++	-	+	+	-	barna	vaj sárga	van
K324	<i>Streptomyces cacaoid subsp. cacaoid</i>	++	++	-	++	++	-	cékla színű	sötét kék	van
K325	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	+++	+++	++	+	++	-	barna	mocsár zöld	van
K326	<i>Streptomyces yokosukanensis</i>	++	++	-	++	+++	-	barna	világos barna	nincs
K328	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	++	++	+++	++	+++	++	sárga	zöld	van
K330	<i>Streptomyces rubrogriseus</i>	++	+++	++	+	+++	-	nincs	vajsárga	van
K331	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	++	+++	+++	++	++	++	nincs	barna/ keki	van
K332	<i>Streptomyces galilaeus</i>	+	+	++	-	++	-	barna	világos bar, korall	nincs
K333	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	-	++	-	++	++	-	világos barna	narancsos	nincs
K335	<i>Streptomyces spiroverticillatus</i>	++	+++	-	++	++	-	barna	sötétbarna	van
K336	<i>Streptomyces violaceolatus</i>	++	+++	++	+	++	-	nincs	viaszsár/indigó	van
K337	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	-	-	-	+	+	-	nincs	fehér	nincs
K338	<i>Streptomyces flaveolus</i>	++	+++	++	+	+	+	nincs	vajszínű	van
K340	<i>Streptomyces albogriseolus</i>	-	+++	-	+	+	-	nincs	fehér	nincs
K341	<i>Streptomyces griseoaurantiacus</i>	+	+++	+	++	++	+	nincs	vaj/viasz sárga	van
K342	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	+	++	-	-	+	-	nincs	vaj/viasz sárga	van
K343	<i>Streptomyces diastaticus</i>	+	++	-	-	++	-	nincs	vaj/viasz sárga	van
K344	<i>Streptomyces drozdowiczii</i>	++	++	-	+	++	-	nincs	vaj/viasz sárga	van
K346	<i>Streptomyces flaveolus</i>	+	+++	-	+	++	-	nincs	vaj/viasz sárga	van
K347	<i>Streptomyces albogriseolus</i>	+	+++	-	+	++	-	nincs	vaj/viasz sárga	van
K348	<i>Streptomyces galilaeus</i>	++	++	-	-	+	-	barna	rozsdá barna	nincs
K350	<i>Streptomyces finlayi</i>	++	++	-	+	+	-	nincs	enyhe rózasz/sárga	van
K351	<i>Streptomyces althioticus</i>	++	++	+++	++	++	++	nincs	vajszínű	van
K352	<i>Streptomyces yanii</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	vajszínű	van
K353	<i>Streptomyces flaveolus</i>	++	++	++	++	+	+	nincs	vajszín/viaszsárga	nincs
K354	<i>Streptomyces aureus</i>	-	++	-	-	+	-	nincs	viaszsárga	nincs
K355	<i>Streptomyces galilaeus</i>	++	++	-	+	++	-	barna	narancssárga	nincs

törzs jele	identifikált faj	szilárd táptalaj (GYM)			folyékony tápleves (GYM)			pigment-termelés szilárd táptalajon	telepszín	spóratermelés
		T24°C	T28°C	T45°C	T24°C	T28°C	T45°C			
K358	<i>Streptomyces flaveolus</i>	-	+++	+++	+	++	+	nincs	viaszsárga	van
K360	<i>Streptomyces phaeoluteigriseus</i>	-	+	-	-	+	-	barna	viaszsárga	nincs
K361	<i>Streptomyces coelicoflavus</i>	++	+++	-	++	++	-	nincs	vajsárga	van
K362	<i>Streptomyces flaveolus</i>	++	++	++	++	++	-	nincs	viaszsárga/fehér	van
K363	<i>Streptomyces tendae</i>	-	++	-	+	++	-	nincs	vajsárga	nincs
K364	<i>Streptomyces glomeroaurantiacus</i>	-	+	-	-	+	-	barna	barna	nincs
K365	<i>Streptomyces drozdowiczii</i>	-	++	-	-	++	-	nincs	vajsárga	van
K366	<i>Streptomyces galilaeus</i>	++	+++	-	+	++	-	barna	narancssárga	van
K367	<i>Streptomyces djakartensis</i>	-	+	-	-	++	-	nincs	sárga	nincs
K369	<i>Streptomyces mutabilis</i>	-	+++	++	+	++	-	nincs	sárga	van
K370	<i>Streptomyces humidus</i>	-	++	-	-	+(P)	-	barna	barna	nincs
K371	<i>Streptomyces phaeofaciens</i>	-	+	-	-	+(P)	-	barna	barna	nincs
K372	<i>Streptomyces violaceus</i>	-	++	-	-	++	-	nincs	bíbor színű	van
K373	<i>Streptomyces galilaeus</i>	-	+	-	-	+	-	barna	barna	nincs
K374	<i>Streptomyces diastaticus subsp. ardesiacus</i>	-	++	-	-	++	-	nincs	vérnarancs	van
K375	<i>Streptomyces canus</i>	-	++	-	+	++	-	nincs	vajsárga	nincs
K377	<i>Streptomyces seoulensis</i>	++	++	-	++	++	-	barna	barna	van
K378	<i>Streptomyces seoulensis</i>	++	++	-	+++	++	-	nincs	vajsárga	van
K380	<i>Streptomyces humidus</i>	-	+	-	+	++	-	barna	barna	van
K381	<i>Streptomyces albogriseolus</i>	+	+	++	++	++	-	nincs	mézszerű/ barna	van
K382	<i>Streptomyces atroolivaceus</i>	+	+	-	+	++	-	nincs	vajsárga	van
K383	<i>Streptomyces finlayi</i>	+++	+++	-	+	++	-	nincs	sárga	van
K386	<i>Streptomyces violaceolatus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	lazacszerű	van
K387	<i>Streptomyces brevispora</i>	++	++	++	++	++	-	barna	sötétbarna	van
K390	<i>Streptomyces violaceus</i>	++	+++	-	+	++	-	nincs	csontszín	van
K391	<i>Streptomyces coelescens</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	lazac/korall	van
K393	<i>Streptomyces violaceolatus</i>	-	+++	-	+	++	-	nincs	vajszerű	van
K396	<i>Streptomyces matensis</i>	+	++	-	-	++	-	nincs	vajszerű	van
K397	<i>Streptomyces collinus</i>	-	++	-	-	+(p)	-	barna	barna	van
K398	<i>Streptomyces bungoensis</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	okker sárga	van
K400	<i>Streptomyces phaeoluteigriseus</i>	-	++	-	-	+	-	barna	mézsárga	van
K401	<i>Streptomyces rubrogriseus</i>	++	+++	-	+	++	-	nincs	vajsárga	van
K403	<i>Streptomyces marokkonensis</i>	+++	+++	-	+	+	-	nincs	zöldes-sárga	van
K404	<i>Streptomyces galilaeus</i>	+	++	-	-	+(p)	-	barna	világos barna	nincs
K405	<i>Streptomyces massasporeus</i>	-	++	-	+(p)	++(p)	-	barna	mézszerű	van
K406	<i>Streptomyces althioticus</i>	++	++	-	+	++	-	nincs	fehéres sárgás	van
K407	<i>Streptomyces matensis</i>	++	++	++	++	+++	+	nincs	fehéres sárgás	van
K408	<i>Streptomyces althioticus</i>	+++	++	++	+	++	+	nincs	fehéres sárgás	van
K409	<i>Streptomyces prasinus</i>	++	+++	-	+	+	-	nincs	mézszerű	van
K410	<i>Streptomyces brevispora</i>	++	++	-	++	++	-	barna	skarlát v./rózsaszín	van
K411	<i>Streptomyces diastaticus</i>	-	++	++	-	++	++	nincs	vajszerű	van
K412	<i>Streptomyces atroolivaceus</i>	+	++	-	+	+	-	nincs	fehéres sárgás	van
K413	<i>Streptomyces sanglieri</i>	+	+	-	+	+	-	nincs	fehéres sárgás	van
K415	<i>Streptomyces glomeroaurantiacus</i>	+	++	-	-	+(p)	-	barna	fehéres sárgás	nincs
K416	<i>Streptomyces umbrinus</i>	+	++	-	-	+(p)	-	barna	fehéres sárgás	nincs
K418	<i>Streptomyces exfoliatus</i>	++	++	-	+	++	+	nincs	mézszerű	van
K419	<i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	-	++	-	-	+	-	barna	barna	nincs
K420	<i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	-	++	-	-	-	-	barna	fehéres sárgás	nincs
K424	<i>Streptomyces xanthophaeus</i>	+	++	-	-	++(p)	-	barna	mézszerű	van
K425	<i>Streptomyces badius</i>	++	++	-	++	+++	-	nincs	zöldes-sárga	van
K430	<i>Streptomyces prasinus</i>	+++	+++	+++	++	++	+	nincs	mézszerű	van
K433	<i>Streptomyces spiroverticillatus</i>	+++	+++	+++	++	++	+	barna	mézszerű	van
K434	<i>Streptomyces flavidovirens</i>	++	++	-	-	++	-	sárga	rozsdabarna	van
K435	<i>Streptomyces setonii</i>	++	++	-	+	++	-	nincs	barna	van

törzs jele	identifikált faj	szilárd táptalaj (GYM)			folyékony tápleves (GYM)			pigment-termelés szilárd táptalajon	telepszín	spórateermelés
		T24°C	T28°C	T45°C	T24°C	T28°C	T45°C			
K438	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	++	++	-	-	+	-	nincs	sárga	van
K439	<i>Streptomyces setonii</i>	++	++	-	+	++	-	nincs	barna	nincs
K440	<i>Streptomyces anulatus</i>	-	+	-	-	+	-	nincs	vajszínű	nincs
K441	<i>Streptomyces setonii</i>	++	++	-	+	++	-	nincs	rózsaszín	van
K442	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	vajszínű	van
K443	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	-	++	-	-	-	-	nincs	vajszínű	nincs
K444	<i>Streptomyces xanthophaeus</i>	++	++	-	++(p)	++	-	barna	világos barna	van
K445	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	++	++	++	-	+	-	kék	szürkés barna	van
K447	<i>Streptomyces fulvorobeus</i>	++	++	-	+	++	-	nincs	csontszínű	nincs
K448	<i>Streptomyces griseorubiginosus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	csontszínű	van
K449	<i>Streptomyces griseorubiginosus</i>	+	+	-	+	+	-	nincs	csontszínű	nincs
K450	<i>Streptomyces speiboane</i>	++	++	++	++	++	-	nincs	viaszsárga	van
K452	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	olívzöld	van
K453	<i>Streptomyces anulatus</i>	++	+	-	++	++	-	nincs	vajszínű	van
K454	<i>Streptomyces anulatus</i>	++	++	-	+++	+++	-	nincs	olívzöld	van
K455	<i>Streptomyces prasinus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	olívzöld	van
K456	<i>Streptomyces intermedius</i>	+++	+++	-	++	++	-	nincs	sárga	van
K457	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	+++	-	++	++	-	nincs	olívzöld	van
K458	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	olívzöld	van
K460	<i>Streptomyces griseus subsp. griseus</i>	+	++	-	++	++	-	nincs	csontszínű	van
K462	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	csontszínű	van
K463	<i>Streptomyces griseus subsp. griseus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	olívzöld	van
K467	<i>Streptomyces albolongus</i>	++	++	-	++	++	-	enyhén barna	mézzsínű	van
K468	<i>Streptomyces anulatus</i>	+	+	-	-	+(p)	-	barna	mézzsínű	nincs
K470	<i>Streptomyces anulatus</i>	++	++	-	++	++	-	barna	mézzsínű	nincs
K471	<i>Streptomyces anulatus</i>	-	+	-	++(p)	+(p)	-	barna	csontszínű	van
K472	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	++	-	++	++	-	barna	mézzsínű	van
K473	<i>Streptomyces globisporus</i>	++	++	-	+	++	-	nincs	csontszínű	nincs
K474	<i>Streptomyces albus subsp. albus</i>	-	-	++	++	+++	++	nincs	csontszínű	van
K475	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	+++	+++	-	++	++	-	nincs	csontszínű	van
K476	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	csontszínű	van
K477	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	+++	+	-	++	++	-	lilás	sötétbarna	van
K478	<i>Streptomyces yanii</i>	+++	+++	-	+++	++	-	nincs	csontszínű	van
K479	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	++	+++	-	++	++	-	lilás	sötétbarna	van
K480	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	++	++	-	++	++	-	barna	mézzsínű	van
K481	<i>Streptomyces rubiginosohelvolus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	csontszínű	van
K482	<i>Streptomyces setonii</i>	++	++	-	++	++	-	barna	sötétbarna	van
K483	<i>Streptomyces seoulensis</i>	-	-	-	+	++	-	nincs	csontszínű	nincs
K484	<i>Streptomyces exfoliatus</i>	+++	+++	-	++	++	-	nincs	mézzsínű	van
K485	<i>Streptomyces seoulensis</i>	-	-	-	+	+	-	nincs	olívzöld	van
K486	<i>Streptomyces omiyaensis</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	okkersárga	van
K487	<i>Streptomyces bungoensis</i>	++	++	-	+	+	-	nincs	citromsárga	nincs
K489	<i>Streptomyces prunicolor</i>	-	-	-	+	+	-	nincs	barna	van
K490	<i>Streptomyces flaveolus</i>	++	++	-	++	++	-	nincs	csontszínű	van
K491	<i>Streptomyces seoulensis</i>	++	++	-	+	++	-	lila	csontszínű	van

MELLÉKLET 4.

A 19 nem *Streptomyces* nemzetséghez tartozó törzs különböző hőmérsékleti értékeken, kétféle tápközegben mutatott növekedése, továbbá a pigmenttermelése és telepszíne szilárd táptalajon (GYM), valamint a spóratermelése követhető nyomon.

Jelmagyarázat: N/A=nincs adat, növekedés: (-) gyenge; (+) normál; (++) jó; (+++) rendkívül jó.

törzs jele	identifikált faj	szilárd táptalaj (GYM)			folyékony tápeles (GYM)			pigment-termelés szilárd táptalajon	telepszín	spóratermelés
		T24°C	T28°C	T45°C	T24°C	T28°C	T45°C			
K4	<i>Rhodococcus pyridinivorans</i>	N/A	+++	-	N/A	N/A	N/A	rózsaszín	barnás-szürkés	nincs
K10	<i>Nocardioopsis synnemataformans</i>	N/A	++	-	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	van
K13	<i>Thermoactinomyces thalophilus</i>	N/A	-	-	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	van
K17	<i>Thermoactinomyces thalophilus</i>	N/A	-	-	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	van
K19	<i>Ureibacillus thermosphaericus</i>	N/A	-	+++	N/A	N/A	N/A	nincs	barnás-szürkés	nincs
K62	<i>Nocardia globerula</i>	-	-	-	++	+	-	nincs	nincs	nincs
K63	<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	-	-	+++	-	-	-	zöldes	zöldes	van
K64	<i>Rhodococcus gordoniae</i>	++	+++	+++	++	+++	-	nincs	korall	nincs
K65	<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	++	+++	+++	+++	+++	-	nincs	korall	nincs
K67	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	+	+	-	++	++	-	nincs	sárgás-fehér	nincs
K69	<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	++	+++	+++	++	+++	-	nincs	korall	nincs
K70	<i>Rhodococcus pyridinivorans</i>	++	+++	+++	+++	++	+++	nincs	tört rózsaszín	nincs
K72	<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	+	++	++	+	-	-	nincs	korall	nincs
K81	<i>Rhodococcus ruber</i>	++	++	-	++	++	++	nincs	korall	nincs
K83	<i>Pseudonocardia alni</i>	+	++	-	+	+	++	nincs	sárgás	van
K84	<i>Rhodococcus aetherivorans</i>	+	++	+	++	++	++	nincs	korall	nincs
K85	<i>Micrococcus yunnanensis</i>	-	-	+	-	-	+	nincs	barnás-szürkés	van
K90	<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	-	-	++	-	-	+++	nincs	drapp	nincs
K229	<i>Micrococcus luteus</i>	-	++	-	-	-	-	nincs	csontszínű	van

MELLÉKLET 5.

A bitoxin vizsgálatba vont 124 db *Streptomyces* törzs mikotoxin bontást követő SOS-Chromoteszt és BLYES-teszt eredménye. A szürkével kiemelt törzseket vontam be a monotoxin kísérletbe. Az öt táblázatrészt az öt kísérleti kör eredményeit tartalmazza, melyekhez külön kontroll értékek tartoznak.

Törzs jele	Identifikált faj	AFB ₁ (IF)	ZEA (B1%)	BLYR (BG%)
K178	<i>Streptomyces bottropensis</i>	1,24	367,07	15,05
K170	<i>Streptomyces canus</i>	1,51	501,30	24,13
K398	<i>Streptomyces bungoensis</i>	1,20	504,00	8,74
K123	<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	1,33	596,09	9,23
K278	<i>Streptomyces cinereoruber subsp. fructofermentans</i>	1,64	639,33	-8,95
K340	<i>Streptomyces albogriseolus</i>	1,78	656,60	-0,90
K269	<i>Streptomyces cacaoi subsp. cacaoi</i>	1,16	713,16	8,08
K397	<i>Streptomyces collinus</i>	1,46	713,48	1,17
K205	<i>Streptomyces cellulosae</i>	1,51	759,22	2,82
K15	<i>Streptomyces albus</i>	2,20	828,45	-9,49
K57	<i>Streptomyces rutgersensis</i>	0,96	829,13	-4,61
K138	<i>Streptomyces althioticus</i>	1,74	833,07	-8,15
K391	<i>Streptomyces coelestis</i>	1,84	852,67	-7,14
K93	<i>Streptomyces albus subsp. albus</i>	2,02	856,32	-7,13
K312	<i>Streptomyces albolongus</i>	1,72	884,32	-5,73
K256	<i>Streptomyces cinereorectus</i>	1,24	886,84	-0,07
K305	<i>Streptomyces coelicoflavus</i>	2,29	910,19	-10,93
K425	<i>Streptomyces badius</i>	1,33	947,55	-3,13
K225	<i>Streptomyces cinnamonensis</i>	1,19	1109,61	-33,30
	Kontroll átlag	2,47	827,57	-11,18

Törzs jele	Identifikált faj	AFB1 (IF)	ZEA (BI%)	BLYR (BG%)	Törzs jele	Identifikált faj	AFB1 (IF)	ZEA (BI%)	BLYR (BG%)
K73	<i>Streptomyces baliensis</i>	1,50	-31,34	26,28	K145	<i>Streptomyces rimosus</i>	1,16	-3,63	-36,55
K108	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	1,17	98,82	10,22	K234	<i>Streptomyces cacaoi</i> <i>subsp. asoensis</i>	0,81	3,09	-42,72
K45	<i>Streptomyces rishiriensis</i>	1,36	148,69	24,75	K128	<i>Streptomyces spiroverticillatus</i>	1,18	4,00	-31,13
K96	<i>Streptomyces minoensis</i>	1,42	165,46	20,90	K136	<i>Streptomyces violaceoruber</i>	1,06	13,83	-37,09
K101	<i>Streptomyces wedmorensis</i>	1,48	212,91	29,53	K144	<i>Streptomyces luteogriseus</i>	1,20	14,09	-29,70
K27	<i>Streptomyces antibioticus</i>	1,28	219,01	24,70	K189	<i>Streptomyces rimosus</i>	1,09	15,16	-32,23
K30	<i>Streptomyces tauricus</i>	2,49	252,25	-5,08	K139	<i>Streptomyces sanglieri</i>	1,18	21,16	-44,21
K106	<i>Streptomyces rubiginosohelvolus</i>	1,27	253,39	0,99	K236	<i>Streptomyces cinereoruber</i>	1,24	22,43	-33,73
K77	<i>Streptomyces drozdowiczii</i>	1,64	269,53	-0,01	K129	<i>Streptomyces violarus</i>	1,06	22,57	-40,42
K58	<i>Streptomyces laceyi</i>	1,19	310,88	13,83	K116	<i>Streptomyces baarnensis</i>	1,08	24,14	-52,05
K43	<i>Streptomyces microflavus</i>	2,54	346,75	-1,50	K232	<i>Streptomyces finlayi</i>	1,19	27,58	-31,06
K35	<i>Streptomyces albovinaceus</i>	1,18	356,70	3,73	K156	<i>Streptomyces atratus</i>	0,95	43,97	-35,14
K25	<i>Streptomyces djakartensis</i>	1,31	383,25	19,12	K238	<i>Streptomyces olivaceoviridis</i>	0,85	46,13	-33,10
K78	<i>Streptomyces sampsonii</i>	1,11	385,22	8,01	K135	<i>Streptomyces tendae</i>	1,07	46,74	-50,06
K74	<i>Streptomyces gougerotii</i>	1,16	419,67	7,08	K176	<i>Streptomyces caniferus</i>	1,20	49,75	-41,18
K47	<i>Streptomyces europaeiscabiei</i>	2,37	419,69	-6,56	K202	<i>Streptomyces pilosus</i>	1,14	57,73	-41,16
K14	<i>Streptomyces cavourensis</i>	1,72	463,53	-7,27	K242	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	1,06	63,09	-40,83
K102	<i>Streptomyces olivochromogenes</i>	1,38	440,01	24,35	K132	<i>Streptomyces</i> <i>glomeroaurantiacus</i>	1,08	66,46	-26,62
K49	<i>Streptomyces griseobrunneus</i>	1,34	471,07	1,28	K171	<i>Streptomyces lincolnensis</i>	1,17	68,99	-27,51
K44	<i>Streptomyces gancidicus</i>	1,14	543,60	-15,05	K197	<i>Streptomyces violaceolatus</i>	1,07	73,44	-46,61
K76	<i>Streptomyces flavolimosus</i>	1,17	596,79	1,93	K253	<i>Streptomyces umbrinus</i>	1,09	83,61	-57,50
K41	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	1,65	615,54	-4,65	K204	<i>Streptomyces cirratus</i>	1,14	84,09	-44,18
K28	<i>Streptomyces galilaeus</i>	1,98	620,86	-31,53	K331	<i>Streptomyces</i> <i>viridochromogenes</i>	1,07	87,51	-42,15
K68	<i>Streptomyces anulatus</i>	1,63	624,26	-14,61	K228	<i>Streptomyces viridodiataticus</i>	1,24	100,11	-34,71
K75	<i>Streptomyces rutgersensis</i>	1,44	630,60	-6,85	K191	<i>Streptomyces flavovirens</i>	1,19	118,44	-33,80
K46	<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	1,13	679,22	-20,56	K201	<i>Streptomyces caeruleatus</i>	1,08	127,81	-46,99
K51	<i>Streptomyces lohii</i>	1,27	729,94	-4,09	K233	<i>Streptomyces humidus</i>	1,16	142,13	-28,20
	Kontroll átlag	2,65	707,64	-10,63	K130	<i>Streptomyces yokosukanensis</i>	0,98	163,62	-37,36
						Kontroll átlag	2,38	760,14	-9,57

Törzs jele	Identifikált faj	AFB1 (IF)	ZEА (BI%)	BLYR (BG%)	Törzs jele	Identifikált faj	AFB1 (IF)	ZEА (BI%)	BLYR (BG%)
K254	<i>Streptomyces vinaceus</i>	1,95	-10,79	32,90	K374	<i>Streptomyces diastaticus subs. ardesiacus</i>	2,11	19,43	5,36
K245	<i>Streptomyces sporoverrucosus</i>	1,14	205,47	34,32	K333	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	2,40	412,57	12,05
K419	<i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	1,53	218,96	21,02	K405	<i>Streptomyces massasporeus</i>	2,09	455,01	12,42
k296	<i>Streptomyces decoyicus</i>	1,81	245,46	6,23	K130	<i>Streptomyces halstedii</i>	1,12	485,63	-1,00
K352	<i>Streptomyces yanii</i>	1,66	269,73	4,50	K100	<i>Streptomyces gibsonii</i>	2,11	523,67	-3,03
K293	<i>Streptomyces mutabilis</i>	1,85	274,51	5,29	K341	<i>Streptomyces griseoaurantiacus</i>	1,98	553,22	-2,81
K244	<i>Streptomyces xanthophaeus</i>	1,80	277,21	14,84	K490	<i>Streptomyces flaveolus</i>	2,26	573,86	2,22
K153	<i>Streptomyces violaceorubidus</i>	1,63	277,32	24,40	K315	<i>Streptomyces longwoodenesis</i>	2,32	613,59	-5,98
K265	<i>Streptomyces seoulensis</i>	2,03	278,17	-3,20	K436	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	1,89	626,26	4,55
K125	<i>Streptomyces spectabilis</i>	1,63	282,22	14,48	K460	<i>Streptomyces griseus subsp. griseus</i>	2,56	674,29	2,73
K409	<i>Streptomyces prasinus</i>	1,17	283,26	7,28	K53	<i>Streptomyces flavogriseus</i>	0,90	683,94	-13,07
K450	<i>Streptomyces speiboane</i>	2,50	285,77	-3,92	K173	<i>Streptomyces lateritius</i>	1,10	686,94	-7,83
K32	<i>Streptomyces tanashiensis</i>	1,85	289,53	-0,86	K18	<i>Streptomyces fradiae</i>	2,99	722,71	-16,18
K489	<i>Streptomyces prunicolor</i>	1,48	300,03	1,93	K237	<i>Streptomyces litmocidini</i>	1,76	735,21	-3,84
K36	<i>Streptomyces turgidiscabies</i>	1,47	302,76	15,34	K181	<i>Streptomyces gardneri</i>	1,36	749,49	-11,45
K109	<i>Streptomyces xanthochromogenes</i>	1,41	311,64	15,18	K456	<i>Streptomyces intermedius</i>	1,04	750,75	5,86
K271	<i>Streptomyces diastaticus</i>	2,01	313,24	12,89	K321	<i>Streptomyces geysirinesis</i>	1,03	754,91	2,18
K272	<i>Streptomyces rubrogriseus</i>	1,97	316,18	12,57	K447	<i>Streptomyces fulvorobeus</i>	1,19	771,48	3,54
K360	<i>Streptomyces phaeoluteigriseus</i>	1,53	320,41	3,97	K448	<i>Streptomyces griseorubiginosus</i>	1,64	774,56	-3,77
K103	<i>Streptomyces rangoonensis</i>	1,74	321,64	6,80	K407	<i>Streptomyces matensis</i>	1,10	798,15	5,04
K179	<i>Streptomyces setonii</i>	2,03	334,87	6,16	K251	<i>Streptomyces lavendulae</i>	1,63	844,55	-8,52
K371	<i>Streptomyces phaeofaciens</i>	1,34	342,16	9,58	K418	<i>Streptomyces exfoliatus</i>	2,04	864,19	0,95
K40	<i>Streptomyces mutomycini</i>	1,11	350,48	7,83	K403	<i>Streptomyces marokkonensis</i>	1,28	894,06	-5,13
K113	<i>Streptomyces violascens</i>	1,40	364,32	12,10	K434	<i>Streptomyces flavidovirens</i>	1,53	898,33	-7,39
K486	<i>Streptomyces omiyaensis</i>	1,55	364,99	0,79	K473	<i>Streptomyces globisporus</i>	2,05	1090,59	-3,89
	Kontroll átlag	1,73	296,20	-10,08		Kontroll átlag	2,79	718,92	-2,30

MELLÉKLET 6.

A *Streptomyces* törzsek által az antimikrobiális hatás vizsgálatban indukált gátlási zónák (mm-ben) a keresztcsíkozós és az agardiffúziós teszt kísérletekben. A táblázatban csak azok a törzsek szerepelnek, melyek gátlást vagy válaszreakciót mutatnak. A mérésből fakadóan a háromszoros ismétlés miatt tized mm-ben kerültek közlésre az értékek.

<i>Streptomyces</i> faj	törzs jele	Gátlási zóna távolsága mm-ben (keresztcsíkozós teszt)						Gátlási zóna átmérője mm-ben (agardiffúziós lyukteszt)					
		<i>Bacillus subtilis</i> DSM 347	<i>Escherichia coli</i> K-12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P18	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1032	<i>Fusarium ploriferatum</i> 5/1	<i>Aspergillus fumigatus</i> 2233	<i>Bacillus subtilis</i> DSM 347	<i>Escherichia coli</i> K-12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P18	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1032	<i>Fusarium ploriferatum</i> 5/1	<i>Aspergillus fumigatus</i> 2233
<i>Streptomyces cavourensis</i>	K14	4,0	11,2	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces albus</i>	K15	0,0	0,0	0,0	4,3	2,2	11,0	0,0	0,0	0,0	4,3	0,0	0,0
<i>Streptomyces albus</i>	K15	0,0	0,0	0,0	2,3	3,7	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces fradiae</i>	K18	7,8	0,0	2,8	0,0	0,0	0,0	8,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces sp. nov</i>	K26	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces antibioticus</i>	K27	12,0	6,5	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces galilaeus</i>	K28	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	K29	2,5	5,8	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces tauricus</i>	K30	3,2	13,8	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces tanashiensis</i>	K32	0,5	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces albovinaceus</i>	K35	9,8	1,3	0,7	5,5	5,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0
<i>Streptomyces turgidiscabies</i>	K36	5,5	10,2	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces gardneri</i>	K38	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces cellulosa</i>	K39	24,3	2,3	1,7	19,2	20,3	22,2	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces mutomycini</i>	K40	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	K41	5,2	2,2	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces microflavus</i>	K43	11,2	22,2	0,0	6,2	2,7	2,7	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces gancidicus</i>	K44	7,2	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces rishiriensis</i>	K45	5,2	4,8	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	K46	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces europaeiscabiei</i>	K47	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces griseobrunneus</i>	K49	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,3	6,7	0,0
<i>Streptomyces lohii</i>	K51	14,2	0,0	0,0	0,0	2,3	2,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces microflavus</i>	K52	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces flavogriseus</i>	K53	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	23,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces albidoflavus</i>	K54	0,0	0,0	0,0	5,3	2,3	7,5	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces anulatus</i>	K57	17,7	19,2	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces laceyi</i>	K58	1,2	0,0	0,0	15,8	4,8	8,2	0,0	0,0	0,0	6,0	4,0	0,0
<i>Streptomyces niveus</i>	K59	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

<i>Streptomyces</i> faj	törzs jele	Gátlási zóna távolsága mm-ben (keresztcsíkozásos teszt)						Gátlási zóna átmérője mm-ben (agardiffúziós lyukteszt)					
		<i>Bacillus subtilis</i> DSM 347	<i>Escherichia coli</i> K-12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P18	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1032	<i>Fusarium ploriferatum</i> 5/1	<i>Aspergillus fumigatus</i> 2233	<i>Bacillus subtilis</i> DSM 347	<i>Escherichia coli</i> K-12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P18	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1032	<i>Fusarium ploriferatum</i> 5/1	<i>Aspergillus fumigatus</i> 2233
<i>Streptomyces baliensis</i>	K73	0,0	0,0	0,0	6,3	5,3	10,3	0,0	0,0	0,0	0,0	2,3	0,0
<i>Streptomyces rutgersensis</i>	K75	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,3	0,0	0,0	0,0	1,0	1,3	0,0
<i>Streptomyces sampsonii</i>	K78	0,0	0,0	0,0	6,8	4,5	13,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	K92	2,0	0,7	0,7	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	K94	1,3	1,3	1,8	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces gibsonii</i>	K100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,7	0,0	0,0	0,0	9,3	2,7
<i>Streptomyces wedmorensis</i>	K101	6,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces olivochromogenes</i>	K102	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,0
<i>Streptomyces rangoonensis</i>	K103	10,7	11,0	0,0	1,0	0,7	0,5	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces rangoonensis</i>	K103	0,0	1,0	0,7	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces mutomycini</i>	K104	0,0	0,0	0,0	3,6	1,6	1,6	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces halstedii</i>	K107	9,3	0,0	0,0	2,0	3,2	2,5	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	K108	0,0	0,0	0,0	0,0	5,2	7,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces rubiginosohelvolus</i>	K110	3,0	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces rangoonensis</i>	K111	23,0	5,7	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces violascens</i>	K113	0,0	0,0	0,0	6,7	2,7	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces violascens</i>	K113	0,0	0,0	0,0	3,7	1,8	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces tanashiensis</i>	K117	0,5	11,8	2,3	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	K123	5,2	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces spiroverticillatus</i>	K128	4,2	4,8	2,3	0,0	0,0	21,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0
<i>Streptomyces violarus</i>	K129	6,3	3,2	0,0	10,0	0,0	8,2	4,0	0,0	0,0	0,0	1,0	8,0
<i>Streptomyces halstedii</i>	K130	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	13,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces yokosukanensis</i>	K131	11,0	0,0	0,0	3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces glomeroaurantiacus</i>	K132	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0
<i>Streptomyces tendae</i>	K135	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces violaceoruber</i>	K136	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,7	12,0	0,0	0,0	0,0	1,0	7,0
<i>Streptomyces althioticus</i>	K138	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces sanglieri</i>	K139	4,2	0,0	0,0	7,3	0,0	6,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces luteogriseus</i>	K144	0,0	0,0	0,0	3,2	24,7	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces rimosus</i>	K145	32,0	35,0	17,8	30,3	35,0	28,0	14,7	0,0	0,0	7,7	7,7	9,3
<i>Streptomyces atratus</i>	K156	0,0	0,0	0,0	10,0	1,5	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces canus</i>	K170	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces lincolnensis</i>	K171	25,4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2	6,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces lateritius</i>	K173	5,0	9,8	0,0	0,0	0,0	0,0	14,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces caniferus</i>	K176	13,5	1,0	0,0	5,8	5,3	4,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces gardneri</i>	K181	2,3	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces rimosus</i>	K189	32,0	35,0	23,7	32,0	35,0	32,0	15,0	9,0	5,0	7,7	5,7	5,0

<i>Streptomyces</i> faj	törzs jele	Gátlási zóna távolsága mm-ben (keresztcsikozásos teszt)						Gátlási zóna átmérője mm-ben (agardiffúziós lyukteszt)					
		<i>Bacillus subtilis</i> DSM 347	<i>Escherichia coli</i> K-12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P18	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1032	<i>Fusarium ploriferatum</i> 5/1	<i>Aspergillus fumigatus</i> 2233	<i>Bacillus subtilis</i> DSM 347	<i>Escherichia coli</i> K-12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P18	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1032	<i>Fusarium ploriferatum</i> 5/1	<i>Aspergillus fumigatus</i> 2233
<i>Streptomyces flavovirens</i>	K191	0,0	7,3	0,0	6,7	1,5	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces flavovirens</i>	K191	0,0	7,3	0,0	6,7	1,0	0,7	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces violaceolatus</i>	K197	1,7	0,0	0,8	0,0	0,0	6,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces caeruleatus</i>	K201	0,3	0,8	0,0	12,0	0,0	16,7	16,0	0,0	0,0	0,0	0,0	14,0
<i>Streptomyces pilosus</i>	K202	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces cirratus</i>	K204	1,2	0,3	7,0	1,3	0,0	1,2	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0
<i>Streptomyces cellulosa</i>	K205	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces gardneri</i>	K220	0,0	7,7	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces cinnamonensis</i>	K225	7,3	13,0	0,0	5,3	10,0	5,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces viridodiataticus</i>	K228	0,0	0,3	0,0	1,0	0,0	2,7	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0
<i>Streptomyces finlayi</i>	K232	13,0	0,0	0,0	2,0	1,0	5,3	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces finlayi</i>	K233	13,0	0,0	0,0	2,3	2,5	1,5	4,0	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0
<i>Streptomyces humidus</i>	K233	2,2	0,0	0,5	0,0	0,0	5,7	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces cacaoi subsp. asoensis</i>	K234	2,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0
<i>Streptomyces albidoflavus</i>	K236	31,3	10,3	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces cinereoruber</i>	K236	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	21,8	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces litmocidini</i>	K237	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7
<i>Streptomyces olivaceoviridis</i>	K238	0,0	0,0	0,0	16,2	0,0	17,7	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces albidoflavus</i>	K242	31,3	10,3	6,0	14,3	4,3	6,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces xanthophaeus</i>	K244	0,0	0,0	0,0	1,8	0,5	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces sporoverrucosus</i>	K245	10,7	0,0	0,0	6,8	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces lavendulae</i>	K251	20,8	23,3	7,7	21,3	15,3	7,2	5,0	0,0	0,0	3,7	2,7	0,0
<i>Streptomyces umbrinus</i>	K253	11,2	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces vinaceus</i>	K254	2,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces mutabilis</i>	K293	2,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces decoyicus</i>	K296	0,0	1,0	1,2	0,7	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces coelicoflavus</i>	K305	0,5	0,0	0,0	16,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces longwoodenesis</i>	K315	7,8	0,0	7,3	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces geysirinesis</i>	K321	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	K331	0,0	14,0	3,5	0,0	0,0	10,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	K333	0,0	0,0	0,0	4,2	3,2	0,7	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces griseoaurantiacus</i>	K341	0,0	0,0	0,0	12,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,7
<i>Streptomyces phaeofaciens</i>	K371	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces coelestis</i>	K391	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces collinus</i>	K397	0,5	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0
<i>Streptomyces bungoensis</i>	K398	7,2	9,6	7,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces prasinus</i>	K409	0,8	0,6	0,6	0,3	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

<i>Streptomyces</i> faj	törzs jele	Gátlási zóna távolsága mm-ben (keresztcsíkozásos teszt)						Gátlási zóna átmérője mm-ben (agardiffúziós lyukteszt)					
		<i>Bacillus subtilis</i> DSM 347	<i>Escherichia coli</i> K-12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P18	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1032	<i>Fusarium ploriferatum</i> 5/1	<i>Aspergillus fumigatus</i> 2233	<i>Bacillus subtilis</i> DSM 347	<i>Escherichia coli</i> K-12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P18	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1032	<i>Fusarium ploriferatum</i> 5/1	<i>Aspergillus fumigatus</i> 2233
<i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	K419	1,3	0,8	1,2	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces hydrogenans</i>	K436	0,0	0,0	0,0	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	11,7	9,7	0,0
<i>Streptomyces griseorubiginosus</i>	K448	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces speiboane</i>	K450	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces intermedius</i>	K456	0,0	0,0	0,0	9,2	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Streptomyces griseus</i> subsp. <i>griseus</i>	K460	0,0	0,0	0,0	12,2	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces globisporus</i>	K473	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,3	0,0
<i>Streptomyces omiyaensis</i>	K486	0,0	1,7	0,8	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<i>Streptomyces prunicolor</i>	K489	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt hálával tartozom témavezetőimnek, Dr. Kriszt Baláznak és Dr. Szabó Istvánnak, akik minden helyzetben és pillanatban támogattak, motiváltak, illetve tanácsaikkal segítettek.

Köszönettel tartozom a Környezetbiztonsági és Környezettoxikológiai Tanszék dolgozóinak türelmük, odaadásuk és mérhetetlen kitartásuk miatt. Különösen Benséné Fekete Ildikónak, aki oly sokszor segédkezett a kísérleteim lebonyolításában. Köszönöm a Környezetipari Regionális Egyetemi Tudásközpont minden munkatársának, amiért segítettek, támogatták munkámat és befogadtak, mint kollégát.

Hálás vagyok hallgatóimnak segítségükért és a sokszor hosszas és dolgoz laborban töltött eredményes napokért és munkájukért.

Továbbá köszönöm opponenseim építő jellegű, értékes javításait és észrevételeit, melyeket a műhelyvitához készítettek, s amelyek segítségével a dolgozatom nagymértékben fejlődhetett.

Teljes szívből köszönöm továbbá családomnak és szeretteimnek, illetve barátaimnak, hogy mellettem álltak és támogattak a kezdetektől a dolgozatom utolsó betűinek leütéséig.

Külön hálával tartozom Kedvesemnek, aki a kutatás éveit örömtelivé és bizakodóvá varázsolta és segített, támogatott a dolgozat ilyen formán való megjelenésében. Munkámat szeretettel ajánlom Dr. Török Gábor Tanár Úr emlékének, akire most is hálával és szeretettel gondolok.

A doktori kutatásaim nem jöhettek volna létre a következő projektek nélkül:

TÁMOP-4.2.1B-11/2/KMR-2011-0003,

Aquafuture VKSZ-12-1-2013-0078,

Research Centre of Excellence-9878/2015/FEKUT.