



KÖRNYEZETTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

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

I. A téma aktualitása, jelentősége.....	4
II. Előzmények, célkitűzések.....	6
III. Anyag és módszer	8
IV. Eredmények.....	11
V. Következtetések, Javaslatok	19

I. A téma aktualitása, jelentősége

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 ezen belül megjelenésük következményeként több toxikus anyag egymásra hatása is 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 eljárás. 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 távolítják el. A remediációs technológia kiválasztásánál nem csak 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 a toxikus anyagokat képesek lebontani, és ezáltal a szennyezést vagy mérgező hatást korlátozott mértékben, illetve ideális esetben, akár teljes mértékben megszüntetni. A módszer komoly előnye más módszerekkel szemben, hogy amennyiben a bontás teljes mértékben végbemegy, a környezetre veszélytelen bomlástermékek jönnek létre.

A baktériumok és mikroszkopikus gombák széleskörű metabolikus repertoárjuknak, jelentős környezettűrésüknek, valamint nagyfokú szaporodásuknak köszönhetően a leggyakoribb szereplői a bioremediációs eljárásoknak. A toxikus anyagok biodegradációjának esetében fontos vizsgálni, hogy a mérgező anyag koncentráció csökkenése valóban a biológiai bontásnak köszönhető, ugyanis az esetenként megkötődhet a mikrobák felszínén, illetve sejtfalán. Szintén lényeges megvizsgálni, hogy a bontás eredményeképpen hogyan változik a toxicitás, hiszen előfordulhat, hogy olyan másodlagos metabolitok keletkeznek, amelyek akár a kiindulási vegyületnél is toxikusabbak.

Szintén 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 patogénként viselkednek vagy esetlegesen antimikrobiális hatással rendelkező anyagot (pl.

antibiotikumok) termelhetnek. Amennyiben a környezetbe kijuttatott baktérium antimikrobiális hatású, akkor ennek következtében megbolygathatja az adott környezet természetes mikrobiótáját, illetve további környezet egészségügyi problémákat vethet fel (például rezisztencia kialakulása és terjedése), és így alkalmazásuk akár komolyabb kockázattal is járhat, mint a biológiai bontással létrejött haszon.

II. Előzmények, célkitűzések

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. A mikotoxinok olyan másodlagos anyagcseretermékek, amelyeket egyes penészgomba fajok termelnek (HUSSEIN és BRASEL, 2001). 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 klímaváltozás következtében olyan intenzív toxintermelő penészgombafajok is eljutottak hazánkba (is) amelyek korábban csak trópusi és szubtrópusi területeken voltak jellemzőek és. A szakirodalmi adatok alapján mára számos baktérium törzsről bebizonyosodott, hogy alkalmas mikotoxinok bontására, vagyis a bioaugmentáció ebben az esetben is egy lehetséges mentesítési módszer lehet. Disszertációmban gombák által termelt toxinok, ún. mikotoxinok biológiai lebonthatóságát vizsgáltam. A kísérleteimben nemzetközi előfordulásuk alapján két igen jelentős mikotoxin, az *Aspergillus* fajok által termelt aflatoxin-B1 (AFB1), valamint a főként *Fusarium*-ok által termelt zearalenon (ZEA). 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.

Disszertációmban egy 494 tagból álló (főként *Streptomyces* nemzetséghez tartozó) törzsgyűjtemény tagjainak AFB1 és ZEA mikotoxin bontó képességét és, az eddigi gyakorlatoktól eltérően, párhuzamosan detoxifikációs képességét is elemeztem. A *Streptomyces*-ek biotechnológiai szempontból talán az egyik legfontosabb prokarióta csoportot képezik. Ipari enzimforrásként (hidrolázok, transzferázok, észterázok) és gyógyszeripari alapanyagforrásként is jelentősek. A *Streptomyces*-ek rendkívül széles spektrumban termelnek antimikrobiális szereket, de ezen kívül antifungális, antivirális és rák ellenes anyagok forrásai is lehetnek. A vizsgált *Streptomycetales* rendbe tartozó *Streptomyces* törzseket világszerte ipari méretekben használják antimikrobiális szereket termelő szervezetekként, de biodegradációs képességüket csak kisebb mértékben tanulmányozták. 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 (főként *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.

III. Anyag és módszer

Kísérleteim első lépéseként a Szent István Egyetem, Környezetbiztosági és Környezettoxikológiai Tanszékén lévő, 494 tételből álló túlnyomó részt *Streptomyces*-ekből álló törzsgyűjtemény tagjait revitalizáltam, majd identifikáltam és fenotípusos vizsgálatot végeztem velük. Célkitűzéseimnek megfelelően a taxonómiai hovatartozásuk alapján meghatározott törzseket AFB1 és ZEA mikotoxin bontásra szkrínéltem (un: nagy elemszámú szűrés), illetve elemeztem toxin biodetoxifikációs képességüket és végül meghatároztam antimikrobiális hatásukat is.

III/1. Revitalizálás

Az identifikálást megelőzően a revitalizálás alapanyagként a 494 tagot számláló törzsgyűjtemény állt rendelkezésemre, melyet korábban a tanszéki munkák keretein belül izoláltak. A munka lebonyolítását nehezítette, hogy a minták egy példányban álltak rendelkezésre - kizárólag kódszámokkal megjelölve -, vagyis semmilyen információ nem állt rendelkezésemre a táptalaj, illetve inkubációhoz szükséges hőmérsékleti optimumról. Az ampullanyitást követően speciális GYM táptalajra oltottam a preparátumokat. Az inkubálás három különböző hőmérsékleten zajlott (24, 28 és 45 °C-on). Az első célkitűzésemet teljesítendő a revitalizálást követően az identifikáláshoz a törzsek 16S rDNS szekvencia meghatározását és analízisét végeztem el, majd a törzsfenntartáshoz liofilizálást és -80°C-on történő tárolást választottam.

III/2. Toxin degradáció és detoxifikáció

A második célkitűzésnek megfelelően a törzsgyűjtemény 124 *Streptomyces* törzs mikotoxinbontó képességét vizsgáltam egy bitoxin és ezt követően egy (ebből 10 törzset kiválasztva előzetes eredmények alapján) monotoxin kísérletben. Az előzetes szkrínelés során a mikotoxin bontási vizsgálatokban a *Streptomyces* törzsek AFB1 és ZEA bontási képességét teszteltem bitoxin rendszerben. Mindegyik toxinból egy rendszeren belül 1-1 µg/ml-es (ppm) toxin végkoncentrációt állítottam be ismétlés nélkül. A mintavételt követően lecentrifugáltam a mintát és a felülúszót és a pellet frakciót külön tároltam. A toxinbontás sikerességét, illetve a biológiai hatás megszűnését AFB1 esetében SOS-Chromoteszttel, ZEA esetében BLYES-teszttel ellenőriztem a felülúszó frakcióból. Az AFB1 toxicitásának megszűnését az SOS-Chromoteszt indukciós faktorának 1,5-nél kisebb értékei jelezték. ZEA ösztrogén hatásából következő biolumineszcencia intenzifikációt (BI%) pedig BLYES-teszttel mértem, ahol a

biolumineszcencia intenzifikáció értékek csökkenése az ösztrogén hatás csökkenését illetve megszűnését jelentette (a kontrollal összevetett legalacsonyabb értékek).

A monotoxin kísérletbe a bitoxin kísérletben feltárt 10 leghatékonyabban detoxifikáló törzset vontam bele. A bitoxin kísérlethez képest a monotoxin rendszerben annyi változtatás történt, hogy a meglévő biológiai hatásmérő módszereket analitikai mérésre alkalmas ELISA-teszttel is kiegészítettem. Ez a módszer antigén - antitest reakció alapján, kolorimetriásan detektálja a toxinkoncentrációt, melyből a degradáció értéke számítható.

A biodegradációs eljárások vizsgálatánál figyelembe kell venni, hogy a baktériumok biokémiai folyamatain kívül egyéb hatások (pl. adszorpció) 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 kísérletben szereplő pellet frakciót is, amely a teljes sejttömeget tartalmazza.

III/3. Antimikrobiális hatás vizsgálata

A harmadik célkitűzésnek eleget téve a törzsgyűjtemény kiválasztott tagjainak antimikrobiális hatásvizsgálatát végeztem el. Ehhez keresztcsíkozásos és agardifúziós lyukteszteket használtam. Hat teszt organizmust választottam ki erre a célra. A prokarióta baktériumcsoportokat a *Bacillus subtilis*, az *Escherichia coli*, valamint a *Pseudomonas aeruginosa* képviselte (utóbbi jelentős környezeti és klinikai szerepe miatt). Az eukariótákat három, biológiai kísérletekben gyakran alkalmazott gombafaj reprezentálta. 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. Mind a hat tesztorganizmus a tanszéki törzsgyűjtemény szerves részét képezi.

A keresztcsíkozásos tesztben használt táplemezek burgonya dextróz táptalajt tartalmaztak, melyre egy csíkot szélesztettem a vizsgált *Streptomyces* törzs tiszta tenyészetéből, az agar közepére. A fent bemutatott tesztorganizmusok csíkjait a *Streptomyces* csíkra merőlegesen két oldalra, de a csíkot nem érintve vittem fel a lemezre. A kísérlet külön-külön agarlemezen tartalmazta a baktérium és a gombafajokat. A feltisztulási, más néven gátlási zónákat, ahol a teszt mikroorganizmus az adott antimikrobiális hatású anyagnak köszönhetően nem növekedett, mm-ben mértem, ebből következtethettem az adott *Streptomyces* törzs antimikrobiális aktivitására.

Az agardiffúziós lyukteszt esetében a *Streptomyces* törzseket GYM táplevest tartalmazó lombikokba oltottam, majd szűrletet készítettem belőlük. Így megkaptam a feltételezhetően antimikrobiális hatású származékokat tartalmazó oldatot. A tesztorganizmumok tenyészetéből szuszpenziót készítettem, melyeket PDA táptalajt tartalmazó Petri-csészékbe adagoltam majd homogenizáltam. A megszilárdult lemezekbe steril dugófúró segítségével 3-3 lyukat vágtam. A lyukakba kimértem a szűrletet, majd inkubáltam őket. A szűrlet gátló hatását a lyukak körül kialakult gátlási zóna átmérőjének hosszában mértem (mm-ben).

IV. Eredmények

IV/1. Revitalizálás és molekuláris biológiai identifikálás

A 494 törzsből álló gyűjteményből 87 törzset nem sikerült revitalizálnom, vagyis a későbbi vizsgálatokat a megmaradt a 407 törzssel végeztem el. A 407 revitalizált törzsből a 16S rDNS azonosítási eljárás alapján 380 törzs, 131 különböző *Streptomyces* fajhoz tartozott. Rajtuk kívül 11 *Rhodococcus* törzs a nemzetség tagja és további 8 törzs egyéb nemzetségekbe tartozott (úgy mint *Micrococcus*, *Nocardia*, *Nocardiopsis*, *Pseudonocardia*, *Thermoactinomyces* és *Ureibacillus*), illetve 8 törzs taxonómiai hovatartozása jelenleg meghatározás alatt van. A *Streptomyces* gyűjtemény 16S rDNS szekvenciái közül a dolgozatom elkészítésének időpontjában 287 db-ot a NCBI GenBank adatbázisban szabadon hozzáférhetővé tettem.

Új tudományos eredmény:

(1. tézis) A 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.

IV/2. Mikotoxin bontási kísérlet

Bitoxin bontási kísérlet

Az SOS-Chromoteszt és a BLYES-teszt vizsgálatok eredménye alapján számos törzs hatékonynak bizonyult az AFB1 és a ZEA bontására. 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 (1. táblázat).

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.

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

Monotoxin bontási kísérlet

A bitoxin kísérlet alapján a tíz kiválasztott törzssel végzett 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 mutattam ki. A kontroll minták átlagos indukciós faktor értéke 2,25 volt (ez az 1 ppm koncentrációhoz tartozó, bontás nélküli értéknek feleltethető meg), vagyis a törzseket nem tartalmazó elegyben változatlanul magas genotoxicitást lehetett mérni az AFB1 bontás elmaradása következtében (2. táblázat).

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

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

3. táblázat. A BLYES-teszt biolumineszcencia intenzifikációs százaléka (átlag ± szórás, n=3) és az ELISA-teszt alapján igazolt ZEA koncentráció és bontási százalék a monotoxin ZEA bontási rendszerében (felülúszó frakcióból).

Törzs	Faj	BLYES (BI%)	ELISA ZEA (mg/L)	ELISA ZEA (degradációs %)
K145^Δ	<i>St. rimosus</i>	-29,72 ± 5,27*	0,0035 ± 0,0017	99,62 ± 0,18
K189^Δ	<i>St. rimosus</i>	-30,14 ± 7,36*	0,0033 ± 0,0022	99,64 ± 0,23
K234^Δ	<i>St. cacaoi subsp. asoensis</i>	307,61 ± 142,99*	0,1125 ± 0,0619	87,85 ± 6,68
K128	<i>St. spiroverticillatus</i>	687,74 ± 119,49	0,2245	76,01
K144	<i>St. luteogriseus</i>	665,16 ± 25,44	0,2555	72,70
K136	<i>St. violaceoruber</i>	553,46 ± 71,52	0,3965	57,64
K116	<i>St. baarnensis</i>	710,67 ± 31,50	0,4200	55,13
K139	<i>St. sanglieri</i>	478,35 ± 41,85	0,4330	53,74
K236	<i>St. cinereoruber</i>	708,22 ± 62,17	0,4555	50,84
K129	<i>St. violarius</i>	610,42 ± 23,26	0,6040	35,47
kontroll^Δ		610,27 ± 61,49	0,9265 ± 0,0602	0,00

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

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

A bitoxin kísérletek alapján kiválasztott 10 törzs ZEA detoxifikációs képességét ismét BLYES-teszt alkalmazásával vizsgáltam. A bontott minták maradék ösztrogén hatását a kontrollhoz viszonyított biolumineszcencia intenzifikáció százalékával (BI%) fejeztem ki (3. táblázat). A BLYES-teszt eredményei 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 toxin bontást mutatott az ELISA-teszt alapján.

A pelletvizsgálat eredménye szerint a vizsgált törzsek esetében az AFB1 molekula megkötődése a sejtfalon nem haladta meg a 30%-ot. Az AFB1 bontási kísérletben szereplő törzsek pellet frakcióinak 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 tényleges bontás eredménye. A ZEA sejtfelületen való megkötődését vizsgálva egyik vizsgált törzs sem mutatott 12,7%-nál nagyobb ZEA toxin adszorpciót. ZEA megkötést nem észleltem 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.

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.

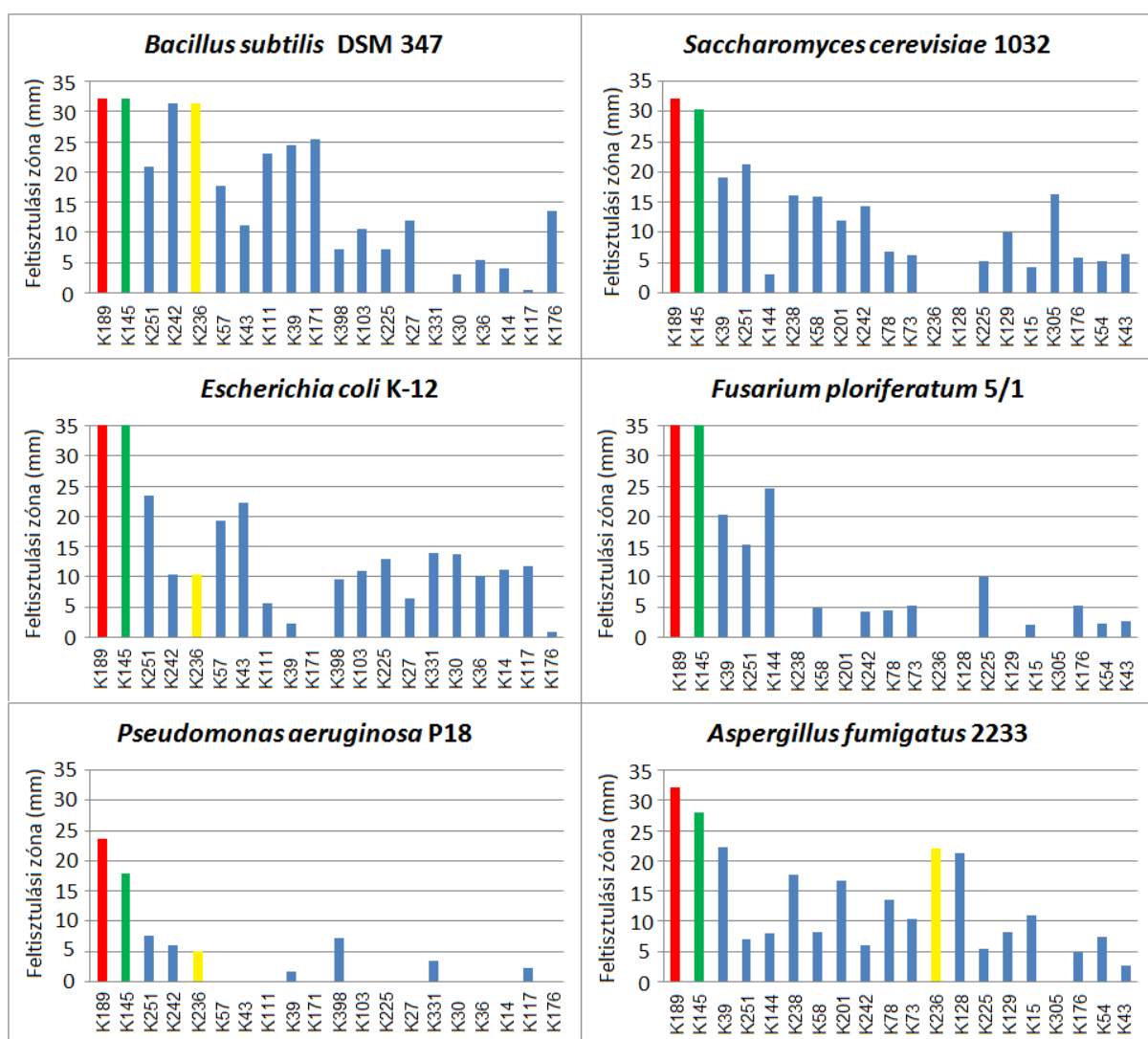
IV/3. Antimikrobiális hatás vizsgálatainak eredményei

Keresztcsíkozásos teszt

Keresztcsíkozásos teszt esetében a 160 vizsgált törzsből (további 2 törzs csak a lyuktesztben szerepelt) 57 törzs nem mutatott semmiféle antimikrobiális hatást. 39 törzs mutatott kizárólag antibakteriális aktivitást. Ezek közül 6 törzs mind a három teszt baktérium faj növekedését gátolta (1. ábra), a többi 33 törzs tehát 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 egyaránt. 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 az antifungális hatású vegyületeiről.



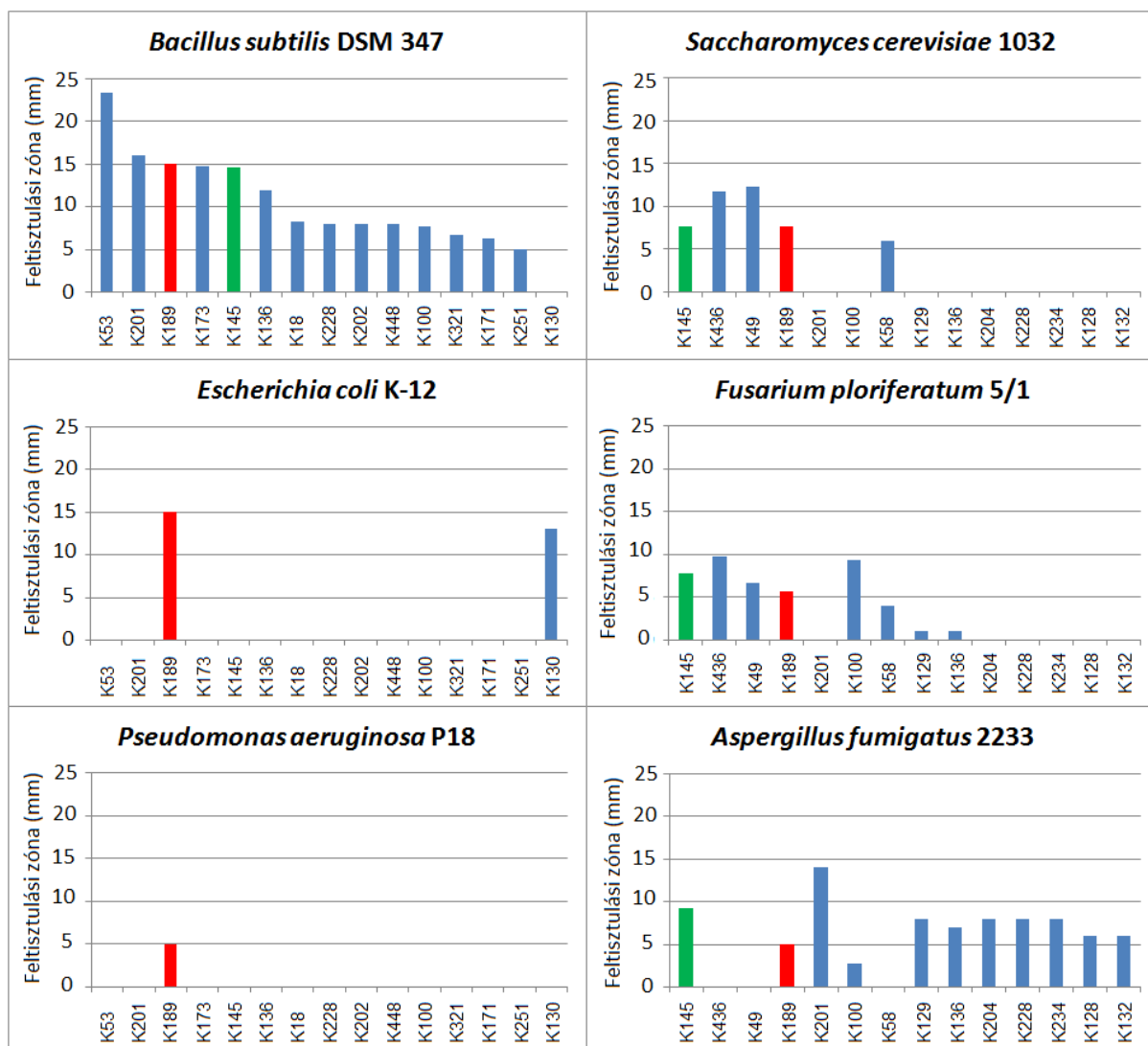
1. ábra. A *Streptomyces* törzsek által mutatott gátlási zóna mm-ben a keresztcsíkozásos tesztnél. A bal oldali oszlopdiaagramokban a három teszt baktériumfaj ellen leghatékonyabban fellépő 20 *Streptomyces* törzs, a jobb oldali oszlopdiaagramokban a három teszt gomba faj ellen leghatékonyabban fellépő 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.

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. 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. Gátlási hatásuk különösen a *Pseudomonas aeruginosa* P18 baktériumnál emelkedik ki a többi *Streptomyces* törzs közül. A *P. aeruginosa* baktériumfaj törzseire világszerte jellemző a multirezisztencia a különböző antibiotikumokkal szemben. Ennek következtében nem meglepő, hogy vizsgálataimban ellene csak kevés (25 a 162-ből) *Streptomyces* törzs mutatott gátló hatást. Ezért a *St. rimosus* K145 és K189 kiemelkedően hatékony gátló hatása különös figyelmet érdemel a klinikai gyakorlatban a *P. aeruginosa* elleni küzdelemben.

Agardiffúziós lyukteszt

Az agardiffúziós lyuktesztnél 74 törzsből 40 törzs nem mutatott semmiféle antimikrobiális hatást. A vizsgálat eredményeit a keresztcsíkozásos tesztnél alkalmazott módszerrel ábrázoltam (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) antimikrobiális hatású anyagot, közülük is a leghatékonyabbnak a *St. flavogriseus* K53 törzs mutatkozott. A faj antimikrobiális hatását korábbi vizsgálatok is bizonyították.

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. Ezek közül a *St. rimosus* K145 törzs az összes gomba ellen gátló hatást mutatott ebben a tesztben is. 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. Ezen törzs eredményei a gátolt csoportok tekintetében megegyeztek a keresztcsíkozásos módszernél tapasztalt eredményekkel.



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.

IV/4. 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

antibiotikumokra kifejezetten érzékeny *Bacillus subtilis* DSM 347 ellen, az agardiffúziós tesztnél pedig az *Aspergillus fumigatus* 2233 ellen igazoltam kismértékű gátló hatást.

4. táblázat A detoxifikációs és antimikrobiális módszerek korrelációs összevetése. Külön ábrázoltam 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.

Láthattuk tehát, hogy a mikotoxin bontásban 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. táblázat). A legtöbb esetben ugyanis 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. 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 történő fellépés tehát összefügg a detoxifikációs tulajdonsággal a bitoxin rendszer alapján.

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.

V. Következtetések, Javaslatok

A *Streptomyetales* rendbe tartozó *Streptomyces* nemzetség eddig főleg antimikrobiális szerek termeléséről ismert baktérium csoport volt. A környezeti elemekből mára már számos törzsüket azonosították és antibiotikum termelő 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, 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 szelektáltam az előkísérletből 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 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. Lehetséges indoklás lehet még, hogy a különböző toxinmolekulák hasonló metabolikus utakat aktiválhatnak a bontó baktérium enzimrendszerében, ami serkentheti a bontást a többféle toxin jelenlétében.

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 nem elég a vegyület molekula-szerkezetének bontás igazolása, mivel a reakciók során metabolitok (bomlástermékek) keletkezhetnek, melyek akár az anyavegyületnél erősebb toxikus hatást is képesek előidézni. Kísérleteimben az AFB1 mikotoxint egyetlen törzs, a *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 volt képes nagy hatékonysággal bontani, illetve a biológiai hatást megszüntetni. Ez a törzs hatékonyan bontotta a ZEA mikotoxin molekulát is, 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.

Számos *Streptomyces* törzset alkalmaznak a gyógyszeriparban nagymértékű antibiotikus hatásuk miatt. További vizsgálataim antimikrobiális hatásuk elemzését célozták meg, és az eredmények alátámasztották, hogy sok sugárgomba törzs hatékonyan lép fel a különböző mikroba szervezetek ellen, illetve szaporodásukban gátolják azokat. Disszertációmban 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 ismét a ZEA bontásnál kiemelt *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 *Streptomyces* faj antimikrobiális hatását az irodalmi adatok alapján korábban még 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 igazoltam a *St. rangoonensis* K103 és K111, a *St. gibsonii* K100, a *St. glomeroaurantiacus* K132, a *St. caniferus* K176 és a *St. coelicoflavus* K305 törzsek esetében.

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 humán- és környezetbiztonsági kérdéseket vethet fel. A két különböző vizsgálati cél (biodetoxifikáció és

antimikrobiális hatás) összesíthető eredménye alapján a kiemelkedő AFB1 biodetoxifikáló *St. cacaoi subsp. asoensis* K234 törzs a keresztcsozatos 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 hatékonyabb és szélesebb spektrumú antimikrobiális hatása ismeretes. Többek között gátló hatással volt egy antibiotikum rezisztens *Staphylococcus aureus* törzsre 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 humán egészségügyi kockázattal járhat, így a következő lépés azon enzimek meghatározása és izolálása lehet, amelyek a mikotoxinok lebontásában bizonyítottan részt vesznek.

A biodegradációs tulajdonságok jövőbeni (bioremediációs) alkalmazhatósága 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, illetve rezisztenciát indukálhat. Az antimikrobiális hatás és a rezisztencia terjesztés kockázatának csökkentése érdekében a baktérium törzsek *in vivo* felhasználása helyett javasolom 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. 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. Mivel azonban a génmódosított szervezetek *in vivo* felhasználása csak korlátozott mértékben lehetséges, ezen szervezetek alkalmazását is csak enzimek termeltetéséhez javasolom. Az antibiotikum termelés esetén használnak ilyen eljárásokat, így azok adaptálása enzimek kinyerésére is alkalmazható módszernek bizonyulhat.

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. Egy *Pseudomonas* törzs esetében azonban már észlelték plazmidon kódolt enzimek ZEA bontását. 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.

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 antimikrobiális szerek és származékok 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 *Ps. aeruginosa* gátló törzsek esetében.

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.

VI. A témában megjelent publikációk listája

Tudományos folyóiratokban megjelent (közlésre elfogadott), lektorált, teljes szövegű tudományos közlemény:

Harkai, P., Szabó, I., Cserhádi, M., Krifaton, C., Risa, A., Radó, J., Balázs, A., Berta, K. & Kriszt, B. (2016) Biodegradation of aflatoxin-B1 and zearalenone by *Streptomyces* sp. collection. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 108, 48-56. (IF: 2,962)

Krifaton Cs., B. Kriszt, A. Risa, S. Szoboszlay, P. Harkai, M. Cserhádi, M. Eldridge, J. Wang, J. Kukolya, (2013) Application of a yeast estrogen reporter system for screening zearalenone degrading microbes. *Journal of Hazardous Materials*, 244, 429-435. (IF: 4,173)

Kaszab, E., Kriszt, B., Atzél, B., Szabó, G., Szabó, I., Harkai, P., Szoboszlay, S. (2010) The occurrence of multi drugresistant *Pseudomonas aeruginosa* on hydrocarbon contaminated sites. *Microbial Ecology*, 59, 37-45. (IF: 2,558)

Kongresszusi kiadványokban megjelent közlemények (nyomtatott formában v. elektronikus adathordozón – nem hitelesített kiadványokra vonatkozóan)

P. Harkai, K. Berta, I. Szabó, Cs. Krifaton, A. Balázs, J. Radó, A. Risa, B. Kriszt (2014) Screening for mycotoxin (aflatoxin-B1, zearalenon) biodegradation from *Actinomycetes* strain collection. Magyar Mikrobiológiai Társaság 2014. évi Nagygyűlése, 2014. október 15-17., Keszthely, (Absztraktfüzet p.20.).

Krifaton Cs., Kukolya J., Risa A., Harkai P., Cserhádi M., Szoboszlay S., Kriszt B. (2011) Screening of zearalenone degrading microbes by yeast oestrogen reporter system (BLYES). In: Nagy K., Márialigeti K. (szerk.) *ActaMicrobiologica et Immunologica Hungarica*, 58 (Suppl.): 175.

Kukolya J., Krifaton Cs., Cserhádi M., Háhn J., Harkai P., Sebők F., Dobolyi Cs., Szoboszlay S., Kovács B., Bakos K., Urbányi B., Kriszt B. (2011) Biomonitoring rendszerek alkalmazása mikotoxin biodetoxifikációjára alkalmas mikroorganizmusok szelekciójára. In: Darvas B. (szerk.) I. Ökotoxikológiai konferencia, Budapest, pp. 16-17.

P. Harkai, P. Veres, M. Farkas, J. Kukolya, S. Szoboszlay, B. Kriszt (2010) Screening for new taxa from *Actionomycetes* strain collection built in the early seventies. Magyar Mikrobiológiai Társaság 2010. évi Nagygyűlése, 2010. október 13-15., Keszthely, (Absztraktfüzet p.28.).

Impakt Faktor (IF) összesítés: 9,693