



# **MAGYAR AGRÁR- és ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM**

**Szemes cirok (*Sorghum bicolor* L. Moench) szemtermésből izolált mikotoxin-  
termelő gombafajok, valamint az általuk termelt egyes mikotoxinok  
bioszintézis hátterének vizsgálata és az azonosított *Fusarium* fajok mikotoxin-  
termelése**

**Doktori (PhD) értekezés**

**Szabó Barbara Katalin**

**GÖDÖLLŐ**

**2024**

## 1. melléklet. A belső címoldal hátoldalának mintája

### A doktori iskola

**megnevezése:** Növénytudományi Doktori Iskola

**tudományága:** agrártudományok

**vezetője:** Prof. Dr. Helyes Lajos  
egyetemi tanár, PhD., D.Sc., CMHA  
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem  
Kertészettudományi Intézet, Zöldség- és Gombatermesztési Tanszék

**Témavezető:** Dr. Körösi Katalin Orsolya

egyetemi docens, PhD.  
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem  
Növényvédelmi Intézet  
Integrált Növényvédelmi Tanszék

.....  
Az iskolavezető jóváhagyása

.....  
A témavezető jóváhagyása

# Tartalomjegyzék

Jelölések, rövidítések jegyzéke .....	1
1. Bevezetés .....	3
2. Célkitűzések.....	5
3. Irodalmi áttekintés .....	6
3.1. A szemes cirok jelentősége napjainkban .....	6
3.2. A <i>Fusarium</i> (Link) fajok taxonómiája és rendszertana, morfológiai jellemzése és az általuk okozott tünetek .....	11
3.3. Az <i>Aspergillus</i> nemzetségbe tartozó fajok morfológiai jellemzése.....	19
3.4. A <i>Penicillium</i> nemzetségbe tartozó fajok jellemzése .....	23
3.5. A fitotoxinok és jelentőségük .....	24
3.6. A mikotoxinok és jelentőségük a növényegészségügyben.....	25
4. Anyag és módszer.....	35
4.1. Szemes cirok minták belső szemfertőzöttségének vizsgálata mikotoxin-termelő gombák vonatkozásában .....	35
4.2. Az izolált <i>Fusarium</i> -, <i>Aspergillus</i> - és <i>Penicillium</i> fajok azonosítása.....	38
4.3. Az egyes <i>Fusarium</i> izolátumok mikotoxin-termelő képességének vizsgálata	43
4.4. <i>Aspergillus</i> izolátumok mikotoxin-termelésben szerepet játszó génjeinek azonosítása .....	46
4.5. A szemes cirok tokoferol és antioxidáns összetételének vizsgálatai .....	47
4.6. Egyes lipofil antioxidánsok hatásai a kiválasztott <i>Fusarium proliferatum</i> izolátumok fumonizin bioszintézisére.....	49
4.7. A szemes cirok minták mikotoxin szennyezettségének vizsgálata.....	50
4.8. Statisztikai számítások.....	52
5. Eredmények és azok megbeszélése .....	53
5.1. A szemtermések belső fertőzöttségének vizsgálati eredményei .....	53
5.2. A vizsgált gomba nemzetségek faj szintű azonosítása .....	58
5.3. A kiválasztott <i>Fusarium</i> fajok mikotoxin-termelőképességének vizsgálati eredményei .....	69

5.4.	Az <i>Aspergillus</i> izolátumok mikotoxin-termelésben szerepet játszó génjeinek azonosítási eredményei .....	71
5.5.	A szemes cirok minták tokoferol és antioxidáns összetétele .....	72
5.6.	Egyes lipofil antioxidánsok hatása a kiválasztott <i>Fusarium proliferatum</i> izolátum fumonizin termelésére .....	74
5.7.	A szemes cirok minták mikotoxin-szennyezettségének vizsgálati eredményei .. .....	76
6.	Következtetések és javaslatok .....	78
6.1.	A szemtermések belső fertőzöttségének vizsgálata .....	78
6.2.	Az izolált és azonosított mikotoxin-termelő gombák.....	78
6.3.	Az azonosított <i>Fusarium</i> fajok makro- és mikromorfológiai vizsgálata .....	80
6.4.	A vizsgált <i>Fusarium</i> fajok mikotoxin-termelőképesége .....	81
6.5.	Az izolált <i>Aspergillus</i> fajok aflatoxin-termeléssel összefüggésbe hozható génjeinek vizsgálata .....	82
6.6.	A lipofil antioxidánsok hatásai az egyes <i>Fusarium</i> fajok mikotoxin-termelésére .....	83
6.7.	A szemes cirok minták mikotoxin-szennyezettségének vizsgálata .....	84
7.	Új tudományos eredmények .....	86
8.	Összefoglalás .....	87
9.	Summary.....	88
10.	Mellékletek .....	89
10.1.	M1 – Irodalomjegyzék.....	89
10.2.	M2 – ZymoResearch MiniPrep DNS Kit leírása .....	113
10.3.	M3 – NCBI adatbázisba feltöltött szekvenciák és azok elérései .....	114
10.4.	M4 – Thermo Fisher Scientific 1kb DNA Ladder .....	124
10.5.	M5 – Agaróz gél fotók – PCR reakciók .....	125
10.6.	M6 – Statisztikai számítások eredményei.....	138
11.	Köszönetnyilvánítás.....	147

## Jelölések, rövidítések jegyzéke

ROS – Reactive Oxygen Species - reaktív oxigénfajták

SGM – Sorghum Grain Mold – cirok szempenészedés/bugapenészedés

FGM – Fusarium Grain Mold - *Fusarium* fajok által okozott szempenészedés

FTSC – Fusarium tricinctum Species Complex - *Fusarium tricinctum* fajkomplex

FIESC – Fusarium incarnatum-equiseti Species Complex - *Fusarium incarnatum-equiseti* fajkomplex

FER – Fusarium Ear Rot – *Fusarium* fajok által okozott csőpenészedés (kukorica)

syn. – szinonima

TCTA – Type A trichotecenes – A típusú trichotecének

TCTB – Type B trichotecenes – B típusú trichotecének

DON – deoxinivalenol

NIV – nivalenol

15ADON – 15-acetil-deoxinivalenol

3ADON – 3-acetil-deoxinivalenol

BEA – beauvericin

ZEA – zearalenon

FSAMSC – Fusarium sambucinum Species Complex - *Fusarium sambucinum* fajkomplex

FHB – Fusarium Head Blight – kalászfuzáriózis (búza)

FOSC – Fusarium oxysporum Species Complex - *Fusarium oxysporum* fajkomplex

FBs – B típusú fumonizinek

FFSC – Fusarium fujikuroi Species Complex - *Fusarium fujikuroi* fajkomplex

PDA – Potato Dextrose Agar – burgonya-dextróz agar

AFs – aflatoxinok

OTA – ochratoxin A

ENNs – enniatinok

NEO – neoszolaniol

DAS – diacetoxiszcirpenol

EFSA – European Food Safety Authority – Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság

MS – mycotoxin synthetic medium – táptalaj mikotoxinok szintetizálására

GAYEP – glükóz-amilopektin-élesztőkivonat-pepton

GRAS – generally recognized as safe – általánosan biztonságosnak tekintendő

CTV – citreoviridin

CPA – ciklopizonsav

NCBI – US National Center for Biotechnology Information

CMC – karboximetil-cellulóz

AFB1 – aflatoxin B1

HST – host specific – gazdaspecifikus

NHST – non-host specific – nem gazdaszervezet specifikus

## 1. Bevezetés

Napjainkban a kis kultúrák, köztük a szemes cirok (*Sorghum bicolor* L. Moench), egyre nagyobb térhódítása tapasztalható, köszönhetően a humán élelmezésben és a haszonállatok takarmányozásában betöltött szerepük növekedésének. E két hasznosítás miatt kikerülhetetlen a kis kultúrák esetében is a mikotoxin-termelő gombák jelenlétének kérdésköre, hiszen a mikotoxin szennyezettség sok gabonaféle szemtermésében problémát okozhat, azonban kevés ismeret áll rendelkezésünkre az említett növényeken megjelenő mikotoxin-termelő gombákról. A mikotoxin-termelő szervezetek jelenléte a szemtermésben nagy kihívást jelent a mezőgazdaság számára még napjainkban is; az éghajlati szélsőségek (aszály, extrém magas hőmérséklet stb.) hatással vannak kultúrnövényeinkre, gyengült, ún. diszpozíciós állapotba kerülhetnek, ami kedvezhet a mikotoxin termelésre is képes növénykórokozók megjelenésének is. A 2022-es év extrém aszályos időjárási viszonyai súlyos károkat okoztak a kukorica termesztés során is Magyarország egyes régióiban.

A Magyarországon termesztett szemes cirok fajták szemterméseit fertőző *Fusarium* fajok felderítésére és azonosítására azonban ez idáig nem irányult kutatás, miközben a termőterületek folyamatosan növekszenek és az éghajlati viszonyok (virágzáskori páratartalom és hőmérséklet) kedveznek az *Fusarium* fajok által okozott szempenészedésnek (FGM).

A szemes cirok az ötödik leggyakrabban termelt gabona a világon. Az öt legnagyobb ciroktermelő ország közé tartozik az Egyesült Államok, Nigéria, Mexikó, India és Szudán (Hansen et al. 2018; Astoreca et al. 2019). Magyarországon a szemes cirok vetésterülete évről évre növekszik; a kutatási projekt kezdetekor a vetésterület 2018-ban 9026 hektár volt, majd 2022-re elérte az 23 710 hektárt a FAOSTAT (2023) adatai alapján, sőt további adatok alapján ez a szám az 50 ezer hektárt is megközelíthette (Sorghum ID 2022). A cirok kiemelten fontos élelmiszer- és takarmányforrás, alacsony ráfordítási költsége és a különféle környezeti tényezőkhöz való alkalmazkodóképessége miatt, különösen a szárazság- és hőtűrése miatt. A különböző afrikai és ázsiai területeken élő emberek milliói támaszkodnak erre a növényre, mint elsődleges táplálékforrásra, azonban a legtöbb fejlett országban nagyrészt állati takarmányként használják. A cirok termesztésének területe még a fejlett régiókban is növekszik, így Amerikában, Ausztráliában és Európában is. Valójában a cirok jó alternatív növény lehet az éghajlatváltozás által érintett területeken, ahol a gazdálkodóknak meg kell küzdeniük az aszály (szárazság) stresszel, a megnövekedett hőmérséklettel és a rossz eloszlású, vagy kevés csapadékkal (Berenji és Dahlberg 2004; Rooney 2014).

További előny lehet, hogy a szemes cirok a gluténmentes gabonák közé tartozik, amely a cöliákiában (gluténérzékenység) szenvedő emberek számára megfelelő gabonaforrás és

helyettesítő lehet a változatos táplálkozás kialakítása során. A cirok rendkívül széleskörű táplálékforrás és változatos az antioxidáns összetétele is, amelyeknek számos pozitív egészségügyi hatásai lehetnek. Ezen hatásoknak köszönhetően a cirok fogyasztása segít a kardiovaszkuláris zavarok és daganatos megbetegedések megelőzésében, továbbá az elhízás és a II. típusú diabétesz megelőzésében is szerepet játszhat.

A fentiek mellett fontos még kiemelni a mikotoxin-szennyezettséggel együtt járó veszélyeket is. A szemes cirok alapú élelmiszeripari termékek és takarmányok esetében nincs hatályos szabályozás a mikotoxin-szennyezettség mértékét tekintve. Tovább bonyolítja a helyzetet, hogy egyre több olyan mikotoxin fordulhat elő a gabonafélékben, amelyekre szintén nincs hatályos szabályozás, illetve csak ajánlás van érvényben ezekre a mennyiségekre. Ezen mikotoxinok közé tartoznak az úgynevezett „emerging” más néven feltörekvő mikotoxinok, mint az enniatinok és a beauvericin. Ezért kiemelten fontosnak tartjuk mikotoxin-termelő gombák előfordulásának vizsgálatát kis kultúrák esetében is, továbbá ezen gombák által termelt mikotoxinokat és előfordulásukat, illetve a kis kultúrák mikotoxin-szennyezettségének mértékét.



## 2. Célkitűzések

A célkitűzéseink a fenti okok miatt a következők voltak:

1. A mikotoxin-termelő gombák jelenlétének vizsgálata egyes szemes cirok minták esetében és az izolált gombák makro- és mikromorfológiai vizsgálata és nemzetségbe sorolása:
  - i. belső fertőzöttségi vizsgálatok, valamint
  - ii. makro- és mikromorfológiai vizsgálatok alapján.
2. Az izolált mikotoxin-termelő nemzetségek molekuláris genetikai vizsgálata transzlációs elongációs faktorra (TEF1- $\alpha$ ) és kalmodulin génre (cmd5/cmd6, CL1/CL2A) specifikus primerekkel. A DNS-ek szekvenálása a pontos fajszintű azonosítás érdekében továbbá az azonosított fajok makro- és mikromorfológiai vizsgálata.
3. Az egyes szemes cirok szemtermésből izolált *Fusarium* fajok (*F. proliferatum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. cf. incarnatum*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides*) mikotoxin-termelőképességének vizsgálata.
4. A szemes cirok szemtermésből izolált *Aspergillus* fajok (*A. flavus* és *A. oryzae*) aflatoxin-termelésben szerepet játszó génjeinek azonosítása.
5. A szemes cirok minták mikotoxin-szennyezettségének (FB1, FB2, BEA, ZEA, DON, HT-2 és T-2) vizsgálata LC/MS-MS módszerrel.
6. A szemes cirok minták lipofil antioxidáns összetételének vizsgálata.
7. A kiválasztott lipofil antioxidánsok ( $\alpha$ -tokoferol,  $\gamma$ -tokoferol, lutein, zeaxantin) hatásának vizsgálata a kiválasztott *Fusarium proliferatum* fumonizin bioszintézisére.

### 3. Irodalmi áttekintés

#### 3.1. A szemes cirok jelentősége napjainkban

A szemes cirok (*Sorghum bicolor* L. Moench) a fejlődő országok alapvető gabona növénye, amelyet állati- és emberi fogyasztásra egyaránt hasznosítanak; a rangsorban az ötödik legnagyobb mennyiségben betakarított növény világszerte (FAOSTAT 2023). Aszályal szembeni ellenállósága, hatékony vízfelhasználása és hőtűrése miatt a cirok a közeljövőben az emberi táplálkozás alapvető növényévé válik, számos irodalom a jövő gabonájaként említi (Chhikara et al. 2019; Meena et al. 2022; Safian et al. 2022; Bakari et al. 2023). A cirok gluténmentessége révén alternatív élelmiszerként szolgál a cöliákiában szenvedők számára (Proietti et al. 2015; Ducksbury és Stefoska-Needham 2022). Ráadásul a cirokalapú termékek rendszeres fogyasztása erős antioxidáns hatásának köszönhetően számos egészségügyi előnnyel jár. Csökkentheti a koleszterinszintet, gyulladás- és rákellenes tulajdonságokkal rendelkezik, valamint csökkenti az elhízás, a II-es típusú cukorbetegség és a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának kockázatát (Xiong et al. 2019a).

A szemes cirok környezeti igénye alkalmazkodott a trópusi és mérsékelt éghajlati területek forró és száraz éghajlatához. A gabona jobb hozamot produkál olyan környezetben, ahol víz- és hőstressz sújtja; mindezek mellett a termesztés során kevesebb ráfordítást igényel (Bakari et al. 2023). Az Éghajlatváltozási Kormányközi Testület feltárta, hogy az elmúlt 50 évben a hőmérséklet éves és szezonális átlaga 2°C-kal nőtt szignifikánsan Magyarország régiói között, továbbá hiányt mutattak ki a vízháztartásban (Huzsvai et al. 2020). A növekvő átlaghőmérséklet kedvezőtlenül befolyásolhatja a kukorica terméshozamát, a cirok viszont a kukoricához képest jobban tolerálja a szárazság okozta stresszt, ezért termesztése egyre gyakoribb Magyarországon is (Fadhli et al. 2020; Safian et al. 2022; KSH 2023). Az élelmiszerek és takarmányok iránti világszerte növekvő kereslet arra készíti a termelőket, hogy fokozzák a gabonatermesztés mértékét (Ferrigo et al. 2022).

##### 3.1.1. A szemes cirok bioaktív vegyületei

A szemes cirok kémiai összetétele és tápértéke hasonló a rizséhez, a kukoricához és a búzáéhoz. 100 g cirokszem energiaértéke 296,1 és 356,0 kcal között változik. A cirok fő összetevői a poliszacharidok (keményítő és nem keményítő), ezt követik a fehérjék és lipidek (Martino et al. 2012; USDA 2012). A cirok fitonutriensek és fenolos vegyületek értékes forrása, amelyek pozitív biológiai tulajdonságokkal rendelkeznek, köztük gyulladásgátló, antioxidáns, antitrombotikus és antidiabetikus hatásaik miatt egészségügyi előnyökkel járnak (Espitia-Hernández et al. 2022).

Amikor a cirok szemterméseket szennyező mikotoxinokkal foglalkozunk, az egyik szempont, amelyet figyelembe kell venni, a fitonutriens-összetétel és a szennyeződésre való érzékenység közötti kölcsönhatás. A cirok egyedülálló a fenolvegyületekben való gazdagsága miatt, ezeket a vegyületeket intenzíven tanulmányozzák azon képességük miatt, hogy képesek-e gátolni a különböző mikotoxinok bioszintézisét (Ahmed et al. 2022). A fenolos savak bioaktivitása hatással van a különböző mikotoxinok bioszintézisére, amely köszönhető az antioxidáns tulajdonságaiknak, pontosabban a reaktív oxigénfajták (ROS) megkötő képességének, valamint a ROS serkentő képességének tulajdonítanak (Montibus et al. 2013). Ami a karotinoidokat és a tokokromanolokat illeti, amelyek egyben a cirokban előforduló antioxidáns metabolitok is, mikotoxin bioszintézisgátló hatásukat sokkal kevésbé dokumentálták, és főként az aflatoxin bioszintézisét vizsgáló tanulmányokra korlátozódtak a vizsgálatok (Norton 1997). Egy 2013-ban közzétett kutatás (Picot et al. 2013) azonban azt sugallta, hogy a lutein gátolhatja a *F. verticillioides* fumonizin termelését, és egy közelmúltban megjelent publikáció igazolta, hogy a zeaxantin képes gátolni a *F. graminearum* B típusú trichotecének bioszintézisét (Savignac et al. 2022).

#### 3.1.1.1. Fenolos vegyületek és falvanodiok

Számos tanulmány során vizsgálták a cirok szemtermések fenolos összetételét, és kimutatták fenolosavakban, flavonoidokban és proantocianidinekben való gazdagságát (Awika et al. 2004; Dykes és Rooney 2006). Annak ellenére, hogy a fenoltartalom a cirok genotípusától és színétől függően változik, a cirok szemtermésekben általában magasabb a fenolosvegyületek mennyisége, mint a gabonafélék többségében, vagy akár egyes gyümölcsök és zöldségek fenolvegyületeinek tartalmánál is magasabbak lehetnek ezen vegyületek aránya (Awika és Rooney 2004; Althwab et al. 2015). A cirok egyik különleges tulajdonsága az antocianinok összetételében rejlik, amelyet a 3-dezoxiantocianinok nagy mennyisége jellemez, míg a növényekben előforduló antocianinok többsége C-3-hidroxilált antocianin (Awika et al. 2004). Az antocianinok többségéhez hasonlóan a 3-dezoxiantocianinok is erős antioxidánsok, melyeknek többek között gyulladáscsökkentő és érvédő hatásuk, valamint hipoglikémiás képességük is lehet (Xiong et al. 2019b). A flavonoidok és fenolosvegyületek összetételében különbség van a szemtermés pigmentáltsága alapján, amelyet a következő táblázatok mutatnak be (1. és 2. táblázat). A fenolos vegyületek esetében a domináns összetevő a ferulasav, a flavonoidok esetében pedig a katekin (Gani et al. 2012; Przybylska-Balcerek et al. 2019).

1. táblázat: A vörös- és fehérmagvú szemes cirok szemtermésében előforduló fenolos vegyületek mg/kg-ban kifejezve. A leggyakrabban előforduló vegyület sárgával kiemelve (Forrás: Gani et al. 2012; Przybylska-Balcerek et al. 2019 alapján saját szerkesztés).

Fenolos vegyület	Vörösmagvú cirok (mg/kg)	Fehérmagvú cirok (mg/kg)
4-hidroxi-benzoésav	19	11,5
kávésav	51,5	21,5
kolorgénsav	11,5	25
<b>ferulasav</b>	<b>91,5</b>	<b>293</b>
galluszsav	59	16,5
p-kumársav	71	149
protokatekusav	83,5	142,5
szinapinsav	10,5	17,5
sziringinsav	5,5	25
t-fahéjsav	nd	11,5
vanillinsav	23	ND

2. táblázat: A vörös- és fehérmagvú szemes cirok szemtermésében előforduló flavonoidok, a leggyakrabban előforduló flavonoid sárgával kiemelve (Forrás: Gani et al. 2012; Przybylska-Balcerek et al. 2019 alapján saját szerkesztés).

Flavonoidok	Vörösmagvú cirok (mg/kg)	Fehérmagvú cirok (mg/kg)
apigenin	0,54	ND
<b>katekin</b>	<b>3,61</b>	<b>4,57</b>
kaempferol	0,33	0,43
luteolin	1,34	3,95
naringenin	0,58	1,11
kvercetin	0,17	0,49
rutin	0,42	1,61
vitexin	0,5	0,9

### 3.1.1.2. Karotinoidok és tokokromanolok

A cirok szemtermések fenolosvegyületeken túl a fitonutriensek két osztályát karotinoidokat és tokokromanolokat (tokoferolokat és tokotrienolokat) is tartalmaznak, amelyek pozitív hatással lehetnek az emberi egészségre, továbbá felelősek a növény magas antioxidáns aktivitásáért (Shahidi és Costa de Camargo 2016; Elvira-Torales et al. 2019). A cirok szemtermésben a karotinoidok és tokokromanolok összetételére vonatkozó ismeretek azonban továbbra is korlátozottak és többnyire a félszáraz, félsivatagi régiókban termesztett cirokfajtákhoz kapcsolódnak (Kean et al. 2007; de Morais Cardoso et al. 2015; Mawouma et al. 2022). Nagyon

keveset tudunk az európai országokban termesztett cirokról a karotinoidok és tokokromanolok összetételével kapcsolatban. A fent említett vizsgálatok igazolták a genetikai és környezeti tényezők hatását a cirok karotinoidjainak és tokokromanoljainak összetételére, és kimutatták, hogy a xantofilok (lutein és zeaxantin) és a tokoferolok a karotinoid-, illetve a tokokromanol családon belül a domináns vegyületek (de Morais Cardoso et al. 2015).

A karotinoidok és tokokromanolok lipofil másodlagos metabolitok, amelyek nélkülözhetetlenek a növények genetikailag meghatározott fejlődéséhez, számos esetben ezek a bioaktív összetevők A és E vitamin források az emberi szervezet számára (Ortiz és Ferruzi 2019).

Számos kutatás alátámasztotta, hogy a cirok szemtermések tokokromanol összetétele alapján a két domináns vegyület a  $\gamma$ -tokoferol és  $\alpha$ -tokoferol. A karotinoidok szempontjából a legnagyobb mértékben előforduló két komponens a lutein és a zeaxantin, mellettük pedig jelen van a  $\beta$ -karotin is (de Morais Cardoso et al. 2015; Niro et al. 2019). Azonban különbséget kell tennünk a karotinoidok összetételében a szemes cirok esetében a szemtermés pigmentálsága alapján, a vörösmagvú cirok genotípusok esetében a zeaxantin a domináns összetevő, míg a fehérmagvú cirok genotípusok esetében a lutein (Przybylska-Balcerek et al. 2019).

### 3.1.2. A *Sorghum Grain Mold* (SGM) betegségkomplex

A cirok fogyasztásával kapcsolatos egészségügyi előnyöket azonban megghiúsíthatja a szemtermések mikotoxinokkal való szennyeződésének kockázata, amelyek penészgombák által termelt mérgező másodlagos metabolitok. Az egyik legfontosabb, a cirok termőképességét és minőségét befolyásoló tényező a cirok szempenészedés betegségkomplex (*Sorghum Grain Mold Disease Complex* (SGM)). Az SGM komplex tagjainak taxonómiája nagyon változatos, ide tartoznak a következő nemzetségek: *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Curvularia* spp., *Colletotrichum* spp. *Penicillium* spp. és *Alternaria* spp. (Bandyopadhyay et al. 2000; Little et al. 2011; Cuevas és Prom 2020; Ackerman et al. 2021). A nemzetségek tagjai képesek mikotoxinok termelésére is. Az SGM-hez kapcsolódó gombák általi fertőzés a fejlődő és az érett szemeken is megtörténhet a szántóföldön vagy a tárolás során egyaránt (Astoreca et al. 2019; Ackerman et al. 2021).

Az SGM betegségkomplexért felelős kórokozók rendkívül változatos és erőteljes fertőzéseket okozhatnak a cirok szemtermések esetében, mivel a gabonapenész eredendően sokféle gomba nemzetség fertőzésének hatására alakul ki, amelyek különféle trofikus életmódot mutatnak: nekrotrof, szaprofita és hemibiotrof. Az SGM komplex során a különböző gombák dominanciaviszonyai drasztikusan változnak a cirok növekedése, betakarítása és tárolása során. Azok a fiziológiai változások, amelyek akkor jelentkeznek, amikor a gomba a vegetatív

stádiumból a generatív, szaporodási szakaszba lép át, valamint a tenyészidőszakról a betakarítás utáni tárolási környezetbe való áthelyeződés befolyásolja a dominanciaviszonyokat (Bandyopadhyay et al. 2000). A korábban *F. moniliforme* néven ismert *F. verticillioides* (Seifert et al. 2003) a legdominánsabb *Fusarium* faj a vegetációs időszakban (Williams és Rao 1981; Cuevas et al. 2019). Az *Aspergillus* fajok azonban a gabonátárolás legfőbb veszélyének tekinthetők, mivel rossz tárolási körülmények között, magas nedvességtartalom mellett vagy rovarok jelenlétében könnyen terjednek a gabonatételek között (Amaike és Keller 2011; Gemede és University 2016).

A korai virágzás során a betegségkomplexet előidéző gomba nemzetségek tagjai megfertőzhetik a cirok szemtermését és megtelepedhetnek a tüskés szövetben a szemek fejlődése előtt, ami fertőzött magkészsletet eredményez. Az antézis után a szempenészesedés kórokozói külsőleg kolonizálhatják az ép szemeket a maghéjon kívül; azonban valódi károk a belső kolonizációból származnak, amely akadályozhatja a szemek fejlődését, és káros lehet a szem minőségére, beleértve mikotoxin-termelést is. A gabona szemtermések belső fertőzése általában az opportunist gombák által okozott fertőzés következménye a fejlődő vagy érett szemek mállása miatti állapotromlás következtében. A gabona belső fertőzésének/fertőzöttségének következményei: (1) az endospermiumban lévő keményítő és fehérjék emésztése; (2) a vetőmag általános lágyulása és bomlása; és (3) a toxikus másodlagos anyagcseretermékek, az úgynevezett mikotoxinok kiválasztódása a szemtermésekbe (Rodriguez-Herrera et al. 2000). Röviden, az étkezés során bevitt mikotoxinoknak való kitettség olyan egészségügyi kockázatokkal járhat, mint a rák és a májzsugor (Wild és Gong 2010; Ostry et al. 2017), illetve az immunológiai rendellenességek (Corrier 1991) és a gyermekek növekedési mutatóinak romlása (Lombard 2014). Az emberi fogyasztás mellett a ciroktermés mintegy 48%-át takarmányozásra használják fel (Astoreca et al. 2019). Az állattenyésztésben a mikotoxinokhoz kapcsolódó, gazdaságilag fontos megbetegedések, mint például a Turkey X-betegség, és más, az expozícióval összefüggő táplálkozási hiányosságok elterjedtek a globális állattenyésztési rendszerekben (Bhat et al. 2010). A mikotoxinok által okozott betegségeket mikotoxikózisoknak nevezzük. A mikotoxinok élelmiszerekkel és takarmányokkal juthatnak be az emberi és állati szervezetbe. Sok mezőgazdasági terméket szennyeznek, az Egyesült Nemzetek Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Szervezete (Food and Agriculture Organization, FAO) jelentése szerint a világ mezőgazdasági termékeinek 25%-a évente mikotoxinokkal szennyezett, ami nagyfokú gazdasági veszteségeket okoz (Da Rocha et al. 2014).

Az SGM egyik összetevője a *Fusarium* fajok által okozott fuzáriumos szempenész (FGM), amely a szemfejlődés korai szakaszában fertőzi a cirok szemterméseket (Frederiksen et al. 1973,

Zummo 1984, Onyike és Nelson 1992; Navi et al. 1999; Summerell et al. 2003; Das et al. 2012). Különbféle toxintermelő *Fusarium* fajokról kimutatták, hogy részt vesznek az FGM-ben, ezek közül a leggyakrabban előforduló fajok a *F. verticillioides*, *F. andiyazi*, *F. proliferatum*, *F. thapsinum* és *F. sachhari* (Bottalico és Perrone 2002; Miller 2008). Az Olaszországban betakarított cirok FGM-jével foglalkozó, közelmúltban végzett tanulmány szerint a *F. verticillioides*, a *F. proliferatum*, a *F. oxysporum*, a *F. semitectum* (*syn. F. cf. incarnatum*), a *F. nygamai*, a *F. equiseti* és a *F. crookwellense* voltak a betegség fő kórokozói. Magyarországon Szécsi és mtsai. (2010) izoláltak cirok szárból *F. verticillioides* fajt, amely hazai kutatások szempontjából az első, amely a cirok fuzáriumos kórokozóival foglalkozott.

### **3.2. A *Fusarium* (Link) fajok taxonómiája és rendszertana, morfológiai jellemzése és az általuk okozott tünetek**

Az aktuális *Fusarium* taxonómiai besorolás molekuláris filogenetikai alapokon nyugszik. A nemzetséget Link határozta meg 1809-ben a *Fusarium roseum* nevű faj leírásával (Crous et al. 2021; Geiser et al. 2021). Taxonómiai besorolás szerint az *Ascomycota* törzsbe (aszkszós gombák) a *Pezizomycotina* altörzsbe, a *Sordariomycetes* osztályba, a *Hypocreales* rendbe azon belül pedig a *Nectriaceae* családba tartoznak (Mycobank 2024). A károsított növényeken általában az ivartalan alakokkal lehet találkozni, azonban az ivaros alakok is megjelenhetnek. Az ivaros alakok jelentősége alárendelt, esetükben az aszkospórák indítják el a fertőzést a *Fusarium* fajok ivaros termőteste a peritécium, amelyben az aszkuszok és aszkospórák helyezkednek el (Crous et al. 2021; Geiser et al. 2021).

A *Fusarium* fajok rendszerezése sokáig nem volt teljesen tisztázott, Wollenweber volt az első, aki tiszta tenyészetek segítségével rendszerezte a fajokat. Az általa különállónak gondolt fajokat 16 különböző szekcióba sorolta be, amelyet később Raillio fejlesztett tovább, aki létrehozott egy 17-ik szekciót is (Crous et al. 2021; Geiser et al. 2021). Azonban a *Fusarium* fajok rendszertana mai napig sem végleges, mert kórtani, fiziológiai, filogenetikai és morfológiai szempontból rendkívül heterogén fajok, azonban a kutatók egy egységes, stabil *Fusarium* taxonómiai rendszeren dolgoznak. A *Fusarium* nemzetséget több különböző fajkomplexekre osztották fel morfológiai, toxintermelőképesség és molekuláris genetikai sajátosságok alapján (Leslie és Summerell 2006; Crous et al. 2021). A *Fusarium* nemzetségben 23 monofiletikus fajkomplexet különböztetünk meg, azonban belül is több mint 400 fajt (O'Donnell et al. 2013; Summerell 2019; Geiser et al. 2021; Laraba et al. 2021;). A legfontosabb fajkomplexek és a leggyakrabban előforduló fajaik az 3. táblázatban láthatóak (Crous et al. 2021).

3. táblázat: A leggyakrabban előforduló *Fusarium* fajkomplexek és azok legfontosabb *Fusarium* fajai (Forrás: Crous et al. 2021 alapján saját szerkesztés)

Fajkomplex	Leggyakrabban előforduló fajok
<i>Fusarium tricinctum</i> species complex (FTSC)	<i>F. avenaceum</i>
	<i>F. tricinctum</i>
<i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> species complex (FIESC)	<i>F. equiseti</i>
	<i>F. incarnatum</i>
	<i>F. monophialidicum</i>
<i>Fusarium sambucinum</i> species complex (FSAMSC)	<i>F. longipes</i>
	<i>F. poae</i>
	<i>F. nodosum</i>
	<i>F. langsethiae</i>
	<i>F. sibiricum</i>
	<i>F. pseudograminearum</i>
	<i>F. culmorum</i>
	<i>F. graminearum</i>
<i>F. sporotrichioides</i>	
<i>Fusarium oxysporum</i> species complex (FOSC)	<i>F. oxysporum</i>
<i>Fusarium fujikuroi</i> species complex (FFSC)	<i>F. konzum</i>
	<i>F. temperatum</i>
	<i>F. circinatum</i>
	<i>F. subglutinans</i>
	<i>F. sacchari</i>
	<i>F. proliferatum</i>
	<i>F. acutatum</i>
	<i>F. thapsinum</i>
	<i>F. nygamai</i>
	<i>F. napiforme</i>
	<i>F. andiyazi</i>
<i>F. verticillioides</i>	

A *Fusarium* nemzetség fajai a konídiumokat és konídiumtartókat termőtest nélkül, szabadon hozzák létre melyből sporodochiumot – konídiumok és micéliumok egyesülése – fejlesztenek. Kétféle ivartalan szaporítósejt keletkezik; az egyik a mikrokonídium, ami egy, kettő vagy három sejtből áll és általában tojásdad, ellipszis vagy gömb alakú, a másik típus pedig a makrokonídiumok, amik általában görbültek vagy görbület nélküliek, orsó vagy kifli alakúak, talp- és csúcssejttel vannak ellátva. Ezeket az ivartalan szaporítósejteket a sporodochiumon hozza létre a gomba. A telepeken klamidospórák és szkleróciumok keletkezhetnek. A nemzetségre jellemző a laza szerkezetű, változatos színű, epifita micélium szövetek, a micélium pigmentáltsága fajkomplexenként, sőt fajonként is eltérő lehet (Ubrizsy 1965; Leslie és Summerell 2006).



A nemzetség tagjai különböző betegségeket okozhatnak számos gazdaságilag fontos növényben, illetve mikotoxin-termelésük révén további megbetegedésekhez vezethetnek az ember és a haszonállatok szervezetében egyaránt. A mikotoxinok mellett a *Fusarium* fajok másodlagos metabolitok széles skálájával rendelkeznek, amelyek a növényi betegségekhez, valamint az emberek és háziállatok rákos megbetegedéséhez és más növekedési rendellenességekhez vezethetnek. A *Fusarium* spp. által okozott tünetek meglehetősen változatosak: gyökér- vagy szárrothadás, rák, hervadás, gyümölcs- vagy magrothadás, valamint levélfoltosság (Leslie és Summerell 2006; Ilgen et al. 2008; Ackerman et al. 2021; Crous et al. 2021).

### 3.2.1. A *Fusarium tricinctum* fajkomplex (FTSC) jellemzése és fontosabb fajai

A közelmúltban számos kutatás alátámasztotta, hogy a *Fusarium tricinctum* fajkomplex (FTSC) tagjai a gabonafélék, hüvelyesek és más gazdaságilag fontos növények kórokozójaként jelentek meg (Zhao és Lu 2008; O'Donnell et al. 2012; Torbati et al. 2019). A fajkomplexbe tartozó kórokozók közül a *F. avenaceum* a leggyakrabban előforduló faj gabonatételekben, mint például árpa, búza, rozs, tritikálé, sőt egyes dél-európai régiókban a *F. avenaceum* a domináns *Fusarium* faj ezen tételekben (Cowger et al. 2020; Senatore et al. 2021).

A fajkomplexbe tartozó *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., amelyet 1886-ban írtak le először széleskörben elterjedt kórokozó, továbbá kiemelten fontos mikotoxin-termelőképesége szempontjából. A növényekben gyökér- és szárrothadást, továbbá szempenészedést okoz. Leggyakrabban a mérsékelt éghajlaton fordul elő (Yli-Mattila et al. 2004; Uhlig et al. 2007). Az ivaros párosodási típusok jelenlétét kimutatták, azonban a faj ivaros alakját még hazánkban nem találták meg (Kerényi et al. 2004).

A *F. avenaceum* konídiumai poliblaszt konidiogén sejtekkel rendelkeznek, továbbá a légmicéliumaikban egyszerű fialidokból álló konídiumokat képeznek (Booth 1971). A makrokonídiumai karcsúak és hosszúak, szeptumokkal többszörösen tagoltak (3-4-5), amelyek lehetnek egyenesek vagy enyhén ívelték. Makrokonídiumok ritkábban képződnek. Mikrokonídiumai kisebbek, fuzoidok, továbbá egy vagy két szeptummal tagoltak, nagy számban termelődnek. PDA táptalajon a gomba nem minden esetben termel pigmenteket, ezért fehér micéliumokat képez, azonban pigmenttermelés esetén a halvány sárgától a szürkés rózsaszínig terjedhet a micélium színe. A középső spórahalmaznál a sporodochium narancssárgás-barnás pigmentáltságú. A gomba a táptalajt is beszínezheti, amely szürkés-rózsaszíntől akár burgundi színig is terjedhet (Leslie és Summerell 2006).

Ezen fajkomplexbe tartozó *Fusarium* fajok szerkezetileg változatos mikotoxinokat termelnek, amelyek közül az enniatinok (ENNs) és a moniliformin (MON) a leggyakoribbak és a

legnagyobb aggodalomra adnak okot az élelmiszer- és takarmánybiztonság szempontjából (Logrieco et al. 2002; Jestoi 2008; Munkvold et al. 2021).

### 3.2.2. *A Fusarium incarnatum-equiseti (FIESC) fajkomplex jellemzése és fontosabb fajai*

A komplexbe tartozó fajokat két kládra bontották: *Equiseti* és *Incarnatum*. Az *Equiseti* kládot 15 filogenetikai faj alkotja, amelyek közül a legfontosabb a *F. equiseti* az *Incarnatum* klád esetén szintén 15 filogenetikai fajt különböztetnek meg (O'Donnell et al. 2009). Azóta számos faj leírás történt a komplexen belül. A fajkomplex jelentős genetikai variabilitást mutató fajokból áll (Leslie és Summerell 2006).

A *F. equiseti* ((Corda) Sacc.) egy talajlakó szaprofita faj, amely képes megtelepedni a gazdaságilag fontos növények gyökerein, továbbá gabonák szemterméseit is fertőzheti egyaránt. A kukorica csőpenészedésében (*Fusarium Ear Rot (FER)*) résztvevő egyik jelentős kórokozóként tartják számon (Munkvold 2017). A faj makrokonídiumai nagyon hosszúak és karcsúak, valamint dorziventrális görbülettel rendelkeznek. A makrokonídiumok 5-7 szeptummal tagoltak és a sporodochiumokban nagy számban képződnek. A mikrokonídiumok nagyon ritkán képződnek, burgonya-dextróz táptalajon (PDA) fehér micéliumokat képez a faj, azaz nem termel pigmenteket, majd idővel halvány narancssárga, narancssárga pigmentáltságot tapasztalhatunk a sporodochiumok és a légmicéliumok esetében (Leslie és Summerell 2006).

A *F. cf. incarnatum* (syn. *F. semitectum*) (Berkeley & Ravenel) fajt izolálták többek között a növények gyökereiből és gabonák szemterméseiből egyaránt. Elsősorban a szubtrópusi éghajlaton fordul elő, azonban egyre gyakrabban izolálják világszerte (Munkvold 2017). A faj makrokonídiumai viszonylag karcsúak, ívelt hátfelülettel és egyenesebb hasfelülettel rendelkeznek. Általában 3-5 szeptummal tagoltak. Sok esetben makrokonídiumok nem képződnek, így mikroszkópi vizsgálatok során is ritkán felfedezhetőek. A mikrokonídiumok általában tojásdad alakúak, általában 1 szeptummal tagoltak és leggyakrabban öregedő izolátumokban fordulnak elő. PDA táptalajon a faj barnás-narancssárgás pigmenteket termel a táptalajt is beszínezhetsé, ha képződik sporodochium az halvány narancssárga pigmenteket képez (Leslie és Summerell 2006).

A *Fusarium incarnatum-equiseti* fajkomplex (FIESC) tagjai A és B típusú trichotecéneket (TCTA, TCTB) termelnek, ilyen mikotoxinok például a deoxynivalenol (DON), nivalenol (NIV), HT-2 és T-2 toxin, DAS toxin, a deoxinivalenol acetyl formái, mint a 3-acetyl-deoxinivalenol (3ADON) és a 15-acetyl-deoxinivalenol (15ADON). A trichotecének mellett számos más másodlagos metabolitot is képesek előállítani ilyenek például a beauvericin (BEA) és a zearalenon (ZEA) (Desjardins 2006).

### 3.2.3. A *Fusarium sambucinum* fajkomplex (FSAMSC) jellemzése és fontosabb fajai

A *Fusarium sambucinum* fajkomplex (FSAMSC) a legfajgazdagabb *Fusarium* fajkomplex, amely számos gazdaságilag jelentős mikotoxin-termelő *Fusarium* fajt foglal magába. A kládok közül az egyik legjelentősebb a *F. graminearum* klád, amelybe a faj és rokonfajai tartoznak. Köztudott, hogy ezen fajok a búza fuzáriózisának, azonbelül is a búza kalászfuzáriózisának (*Fusarium* Head Blight (FHB)) jelentős kórokozói és már világszerte hatalmas gazdasági károkat okoztak a gabonahozam jelentős csökkenésével, továbbá a mikotoxinokkal való erős szennyeződés miatt (Nganje et al. 2004; Kelly et al. 2016).

A *F. graminearum* (Schwabe) faj erősen virulens mind az őszi búza esetében FHB-t és a kukorica esetében FER-t okoz, amely nagymértékű gazdasági károkat idézhet elő a termelt B típusú trichotecének és a termés kiesés okán (Ferrigo et al. 2016). A faj makrokonídiumai karcsúak, vastagfalúak és közepes hosszúságúak, továbbá 6-7 szeptummal tagoltak. Mérsékelten ívelték, vagy egyenesek is lehetnek, a *F. graminearum* izolátumokban a makrokonídiumok ritkán jelennek meg, azonban, ha megjelennek sporodochiumban gyakrabban megtalálhatóak. A mikrokonídiumokat nagyszámban képezi a faj. PDA táptalajon az izolátumok gyorsan felszaporodnak, a micéliumok pigmenttermelése hiányos, vagy halvány narancstól a sárga színig fordulnak elő. A sporodochium 30 nap elteltével jelenik meg, amely barnás-narancssárgás pigmentáltságot mutat. A táptalajt a gomba pirosas színűre színezi (Leslie és Summerell 2006).

A *F. sporotrichioides* (Sherbakoff) faj világszerte elterjedt és számos növényen előforduló faj. Az általa okozott megbetegedés, fertőzés sok esetben szabad szemmel nem látható, azonban a teljesen egészségesnek tűnő szemtermések esetén is számolhatunk A típusú trichotecének (HT-2 és T-2 toxin) által okozott mikotoxin-szennyezettséggel (Martin et al. 2018). A makrokonídiumok görbültek, hold alakúak, általában 3-5 szeptummal tagoltak a faj nagy számban termeli őket. A mikrokonídiumok tagolatlanok, vagy egyes tagolásúak, ellipszis alakúak és nagy számban termelődnek. PDA táptalajon a micéliumok bőségesek, sűrűn és gyorsan nőnek. A tenyészet kezdetben fehér vagy halványvörös, de az életkor előrehaladtával a pigment elsötétül, és narancssárga sporodochium jelenhet meg. Az agarban vörös pigmentek képződnek (Leslie és Summerell 2006).

Az FSAMSC számos fajáról ismert, hogy a növényi szövetekben mérgező másodlagos metabolitok koktélját termelik, beleértve az A és B típusú trichotecéneket, amelyek az élelmiszerbiztonság és a humán egészségügy szempontjából a legnagyobb aggodalomra okot adó mikotoxinok közé tartoznak. A trichotecének erősen gátolják az eukarióta fehérjeszintézist, és neurológiai, gasztrointesztinális, immunológiai és egyéb egészségügyi problémákat okozhatnak. Úgy tűnik, hogy bizonyos trichotecének növényben történő termelése hozzájárul a *Fusarium* faj

patogenitásához több haszonnövényen, ahol virulencia faktorokként működnek, amelyek legyőzik a növény védekezését és elősegítik a gazdaszövetek kolonizációját. Továbbá a B típusú trichotecénekkal együtt ZEA toxinok is termelődhetnek és szennyezhetik a gabonátételeket, amely ösztrogén hatása miatt a kiemelten veszélyes mikotoxinok közé tartozik (Munkvold 2017).

#### 3.2.4. A *Fusarium oxysporum* fajkomplex (FOOSC) jellemzése

A *Fusarium oxysporum* fajkomplex (FOOSC) tagjai a vaszkuláris hervadásos betegségek kórokozóiként ismertek, azonban fontos gyökérrothadást okozó fajok is tartoznak ebbe a komplexbe. Mikotoxin-termelésük nem jelentős, így az emberek és állatok nem kitéttek a mikotoxinok fenyegetésének ezen fajok esetében, azonban a faj elenyésző mennyiségben fumonizinek (FBs) termelésre is képes lehet (Baayen et al. 2000; Susca et al. 2014). A komplexen belül több mint 100 forma specialist különböztetnek meg, amelyek jelentős megbetegedést okoznak a gabonátételek és más gazdaságilag fontos növényeket igen széles körében. A fontosabb fajok közé tartozik a *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, amely a banán Panama-betegségét okozza, az *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, amely a gyapot kórokozója, a *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, amely a közönséges bab kórokozója, a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, amely a paradicsom kórokozója és a *F. oxysporum* f. sp. *lactucae*, amely salátán okozhat megbetegedéseket. A *F. oxysporum sensu lato* számos gabonanövény és hüvelyes gyökérrothadását, valamint palántadőlését okozó gombája, azonban számos nem patogén, szaprofita életmódú FOOSC törzs létezik, amiket nem lehetséges elkülöníteni (Booth 1971; Leslie és Summerell 2006; Munkvold 2017).

#### 3.2.5. A *Fusarium fujikuroi* fajkomplex (FFSC) jellemzése és jelentősebb fajai

A *Fusarium fujikuroi* (korábban *Gibberella fujikuroi*) fajkomplex (FFSC) tagjai fontos betegségeket okoznak kukoricában, cirokban, rizsben, cukornádban, mangóban és más egyéb gabonafélében. Ezek felelősek a gabona és más termények fumonizin szennyeződéséért is. Az FFSC nagyjából megfelel a Snyder és Hansen (1940) által leírt *F. moniliforme* fajkoncepciónak vagy a Wollenweber és Reinking (1935) által meghatározott *Liseola* szekciónak. A biológiai faj fogalmát ebben a csoportban alkalmazták a legszélesebb körben, ami legalább 13 biológiai faj azonosításához vezetett, de több mint 50 filogenetikai fajt írtak le (Aoki et al. 2014). Az FFSC tagjai által okozott fontos növényi betegségek közé tartozik a kalászrothadás, szempenészedés, csőpenészedés a szárrothadás és a kukorica csíranövénypusztulása, amelyet *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. temperatum* és *F. verticillioides* okoz; fenyőfák szurokrákja, amelyet a *F. circinatum* okoz; a rizs Bakanae-betegsége, amelyet *F. fujikuroi* okoz; a cukornád pockah boeng-betegsége, amelyet *F. sacchari* okoz; valamint a *F. mangiferae* és más fajok által okozott mangó fejlődési rendellenességek (Munkvold 2017).

A *F. proliferatum* (Matsushima) Nirenberg egy gyakori hemibiotróf kórokozó, amely számos gazdanövényt megfertőz, beleértve a gabonaféléket, hüvelyeseket, valamint a zöldség- és gyümölcskultúrákat, és sok évig életképes marad (Stępień et al. 2015). Ha a kórokozó kedvező körülmények között találkozik egy fogékony növényvel, a fertőzés gyakran jelentős termésveszteséghez és terméscsökkenéshez vezet (Ferrigo et al. 2022; Corallo et al. 2023). A *F. proliferatum* főként vetőmag és növényi maradványok útján terjed. A fertőzés a csíranövény korai szakaszában elpusztítja a növényt, és a későbbi szakaszokban gyenge termést eredményez a szempenészedés okaként (FGM) (Munkvold 2003). A faj makrokonídiumai karcsúak, vékonyfalúak és viszonylag egyenesek, általában 3-5 szeptummal tagoltak, általában a friss tenyészetek termelik nagy számban. A mikrokonídiumok gömbalakúak és tagolatlanok, nagy számban képződnek. A bőséges légmicélium kezdetben fehér, de az idő előrehaladtával lilás színűvé válhat. A sporodochiumok különálló entitásokként vagy a kolónia egyes részein csaknem összefolyóan jelen lehetnek. A lila pigmentek általában az agarban képződnek, de az általános pigmentáció intenzitása a majdnem színtelentől a majdnem feketéig változik. Egyes izolátumokban kék-fekete szkleróciumok alakulhatnak ki (Leslie és Summerell 2006).

A *F. verticillioides* ((Sacc.), Nirenberg) ezen faj a csőpenészedés (FER) egyik fő kórokozója, amely a kukoricatermesztés érintő egyik legfontosabb betegség világszerte. A faj által termelt fumonizinnal szennyezett termény jelentős élelmiszer- és takarmánybiztonsági aggályt jelentenek (Picot et al. 2010). Számos tanulmány alátámasztotta, hogy a szemes cirok szemtermésében az egyik leggyakrabban megjelenő faj a *F. verticillioides* (Ferrigo et al. 2022). A faj makrokonídiumai karcsúak, vékonyfalúak és viszonylag egyenesek, általában 3-5 szeptummal tagoltak hasonlóan a *F. proliferatum* faj konídiumaihoz, azonban ezen faj esetében a makrokonídiumok nehezen fellelhetőek, mivel nagyon ritkán képződnek. A mikrokonídiumok ovális vagy gömb alakúak és tagolatlanok, szemben a makrokonídiumokkal nagyszámban képződnek a légmicéliumokban. A tenyészetek kezdetben fehér micéliummal rendelkeznek, de az életkor előrehaladtával lila pigmentek képződhetnek. Az agar pigmentációja változó, a pigmentáció hiányától vagy a szürkés narancstól az ibolyaszürkéig, a sötét ibolyaszínig vagy a sötét bíborig (majdnem fekete) terjedhetnek. Egyes izolátumokban kékes-fekete szkleróciumok alakulhatnak ki (Leslie és Summerell 2006).

A *F. subglutinans* ((Wollenweber & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas) faj a kukorica fontos kórokozója, amelyet világszerte gyakran izolálnak, és a csíranövény betegségek, a szárrothadás és a csőpenészedés okozójaként tartják számon. A faj mikotoxin-termelése több kérdést is felvet, hiszen a testvér faja a *F. temperatum* több mikotoxint is termelhet (BEA, FBs), azonban az *F. subglutinans* általában nem termel mikotoxinokat, amely a *Fum* klasztergének

hiányának köszönhető (Moretti et al. 2008; Munkvold et al. 2009; Fumero et al. 2020). A faj makrokonídiumai karcsúak, vékonyfalúak és viszonylag egyenesek, általában 3 szeptummal tagoltak és igen ritkán fordulnak elő. A mikrokonídiumok ovális alakúak, tagolatlanok és a légmicéliumban nagyszámban képződnek. PDA táptalajon a bőséges micéliumnövekedés kezdetben fehér, de a tenyészet öregedésével ibolyaszínűvé válik. Az agar pigmentációja a színtelentől a sötét liláig terjed, amely majdnem fekete, a legtöbb tenyészet valamilyen árnyalatú lila pigmentet termel a micéliumok esetében. Egyes izolátumokban kék-fekete szkleróciumok alakulhatnak ki (Leslie és Summerell 2006).

A *F. thapsinum* (Klittich, Leslie, Nelson & Marasas) a cirok szárrothadását és szempenészesedését (SGM) okozza, és egyes *in vitro* vizsgálatok során magasfokú virulenciát mutat a cirokkal szemben. A patogenitás mértéke a növekedési szakasztól és a gazdaszervezet genetikai hátterétől függ. A *F. thapsinum* megtelepedhet a növény bugájában, és indukálhatja a 3'-dezoiantocianinok termelését, amely egy stresszválasz a cirok esetében. A bugából származó vetőmag jelentősen csökkent csírázást mutathat még akkor is, ha a penészgomba aránya viszonylag alacsony (Leslie és Summerell 2006). A faj makrokonídiumai karcsúak, vékonyfalúak és viszonylag egyenesek, általában 3-5 szeptummal tagoltak, nehezen detektálhatóak, mivel előfordulások igen ritka. A mikrokonídiumok általában nyomott gömb alakúak és tagolatlanok, nagyszámban képződnek a légmicéliumokban. PDA táptalajon a *F. thapsinum* bőséges fehér micéliumot képez, amely az életkor előrehaladtával sötétedhet (ibolya pigmentek). A sporodochiumok általában hiányoznak, de ha vannak, halvány narancssárgák. Egyes izolátumok sötét színű szkleróciumot termelhetnek. Az agar pigmentációja meglehetősen változó. A legtöbb törzs egy jellegzetes sárga pigmentet termel, amely diagnosztizálás egyik alapja lehet, továbbá faji jellegzetesség ezen izolátumok esetében (Leslie és Summerell 2006).

A trichotecének után a fumonizinek azok a *Fusarium* mikotoxinok, amelyek leggyakrabban az emberek és az állatok toxikózisaihoz kapcsolódnak. Ezek a kukoricában és más gabonákban található leggyakoribb mikotoxinok. A fumonizineket elsősorban a *F. fujikuroi* (*G. fujikuroi*) fajkomplexumban található fajok termelik, bár az *Aspergillus Nigri* szekciójában egyes fajok kis mennyiségű fumonizin B2-t termelhetnek (Susca et al. 2014). A legfontosabb fumonizin-termelő fajok a *F. verticillioides* és a *F. proliferatum*; a mikotoxinok ezen osztályát a *F. moniliforme*-ről nevezték el, amely néven korábban mindkét fajt ismerték (Proctor et al. 2013; Munkvold 2017).

### 3.2.6. A *Fusarium* fajok molekuláris genetikai azonosításának lehetőségei

Számos gén, primer kombináció és polimeráz láncreakció protokoll szerepel a *Fusarium* fajok azonosításával kapcsolatos szakirodalomban (O'Donnell et al. 1998a, 2000, 2007, 2010,

2013; Gräfenhan et al. 2011; Lombard et al. 2015, 2019), beleértve a teljes genom szekvenálását a kívánt gének felkutatásához (O'Donnell et al. 2020, Geiser et al. 2021).

A nukleáris riboszómális DNS (nrDNS), beleértve a belső átírt spacer régió cisztront (ITS) és a 28S nagy alegységet, az nrDNS-t (LSU), nem megfelelőek a *Fusarium* és rokon nemzetségekbe tartozó fajok faj szintű azonosítására. Mindazonáltal, tekintettel az amplifikáció egyszerűségére és a nyilvános adatbázisokban összehasonlításra rendelkezésre álló kiterjedt adatokra (Schoch et al. 2012), ezek a markerek hasznosak a *Fusarium* több fajkomplexe közötti megkülönböztetésben, valamint a biztos nemzetségszintű azonosításban. Az ITS-régió továbbra is értékes információkat nyújthat fajsinten a korábban a *Fusarium* nemzetségben szereplő fajokat tartalmazó rokon nemzetségekről (*Bisifusarium*, *Cosmospora*, *Fusicolla*, *Macroconia*, *Microcera* és *Stylonectria*). Számos fehérjekódoló gént vizsgáltak molekuláris genetikai azonosítás és taxonómiai besorolás céljára *Fusarium* nemzetséghez tartozó gombák esetében. Az azonosításhoz használt két fő gén a *tefl* és az *rpb2*. A translációs elongációs faktor (TEF1- $\alpha$ ) általában az elsőként választott azonosító marker, mivel nagyon jó felbontási képességgel rendelkezik a legtöbb faj esetében, míg az *rpb2* lehetővé teszi a szorosan rokon fajok közötti fokozott megkülönböztetést (O'Donnell 2000, Nalim et al. 2011, Herron et al. 2015) Másrészt a PCR-amplifikáció és a szekvenálás sikere gyakran jobb a *tefl*- $\alpha$  gén esetében, mint az *rpb2* gén esetében. Filogenetikai elemzésekhez az *rpb2* szekvenciák szekvencia-illesztése sokkal robusztusabb és kevésbé egyértelmű, mint a *tefl* szekvenciák illesztése, tekintettel az előbbi gén előnyösen alacsony intron-arányára. Hasonló helyzetet mutattak ki az *Aspergillus* (Samson et al. 2014) és a *Penicillium* (Visagie et al. 2014) esetében. További genetikai markerek, amelyeket gyakran alkalmaznak a korábban említett génekkel kapcsolatban a többgénés filogenetikai elemzésekben, többek között az *acl1*, *tub2*, *CaM* és a *rpb1*. Ezek a markerek a nemzetségtől vagy fajkomplexumtól függően változó felbontással vagy alkalmazhatósággal rendelkeznek (O'Donnell 2000, Al-Hatmi et al. 2019).

### **3.3. Az *Aspergillus* nemzetségbe tartozó fajok morfológiai jellemzése**

Az *Aspergillus* nemzetség morfológiai, fiziológiai és filogenetikai tulajdonságokon alapuló változatos fajsoportot foglal magában, amelyek jelentős hatással vannak a biotechnológiára, az élelmiszer előállításra, a beltéri környezetre és az emberi egészségre. Az *Aspergillus* nemzetség több mint 300 fajt foglal magában, 19 szekcióra bontva (Samson et al. 2014). Közülük az *Aspergillus Flavi* szekciójába tartozó gombafajok fontosak a mezőgazdaság, a biotechnológia, az élelmiszeripar és a humán- és állategészségügy szempontjából (Frisvad et al. 2018). Például az *Aspergillus flavus* a kukorica és az olajos magvak egyik fő kórokozó gombája a termés betakarítása során, amely gyakran a természetben a legerősebb rákkeltő anyagok, az aflatoxinok (AFs)

termelésével párosul, amely a termés minőségi romlását és gazdasági károkat okoz (Klich 2007; Amaike és Keller 2011).

Taxonómiai besorolás szerint az *Ascomycota* törzsbe (aszkuszos gombák) a *Pezizomycotina* altörzsbe, az *Eurotiomycetes* osztályba, az *Eurotiales* rendbe azon belül pedig az *Aspergillaceae* családba tartoznak az *Aspergillus* nemzetség tagjai (Mycobank 2024).

Az *Aspergillus* nemzetségbe tartozó növényi kórokozó fajok szaprofita szervezetként képesek fennmaradni a talajban, illetve a növényi maradványokon. Ivartalan úton konídiumokat képeznek, melyek konídiumtartókon jönnek létre. A konídiumok a szél, csapadék vagy rovarok segítségével terjednek. A számukra kedvezőtlen időszakot pedig szklerócium kitartóképlet formájában vészeli át, amely egy vastagfalú kitartóképlet (Amaike és Keller 2011).

A nemzetségbe tartozó növényi kórokozók több fontos élelmiszer alapanyagot is képesek megfertőzni továbbá számos fajuk mikotoxinokat termelhet (Palencia et al. 2010). Az *Aspergillus Flavi* szekciójába tartozó *A. flavus* a növényeinken általánosan előforduló faj, amely az *A. parasiticus* mellett közegészségügyi szempontból a legfontosabb aflatoxin-termelők közé sorolható (Horn 2007; Riba et al. 2010). Az *A. flavus* mellett más, a *Flavi* szekcióba tartozó fajok is termelnek különféle, emberekre és haszonállatokra káros mikotoxinokat (Frisvad et al. 2018). Ezzel szemben számos faj hasznosítható fermentált élelmiszerekben, biotechnológiában és gyógyszeriparban (Park et al. 2017). Például az *A. oryzae*-t hagyományos fermentált élelmiszerekben használják, mint például meju, szójaszós, miso és szaké (Kobayashi et al. 2007; Jin et al. 2021).

Az *Aspergillus* nemzetség legtöbb faja a környezetbe kerülő konídiumok termelésével szaporodik (Varga et al. 2011). Néhány *Aspergillus* faj ivaros spóraalakot is termel, de a legtöbb faj ivartalan spórákkal, úgynevezett konídiumokkal szaporodik (Adams et al. 1998; Bennett 2010). Az ivartalan spórát a konídiumtartó hordozza és hozza létre azokat (Park és Yu 2012; Baltussen et al. 2020). A hifákkal ellentétben a konídiumok vastag sejtfalszerkezettel rendelkeznek, amely ellenáll a környezeti feltételeknek, valamint védelmet nyújt a gazdaszervezet ellenáll a gazdaszervezet által termelt, védekezésben szerepet játszó anyagok ellen (Baltussen et al. 2020). Ezenkívül a konídiumok számos másodlagos metabolitot termelhetnek, például melanint és mikotoxinokat, amelyek kulcsszerepet játszanak a patogenezisben és a kórokozó fejlődésében (Wilkinson et al. 2004). Hazánkban az aflatoxin-termelő fajok közül az *A. flavus*-t izolálták különböző mezőgazdasági terményekről, mint kukorica, búza vagy szőlő (Varga et al. 2011).



### 3.3.1. Az *Aspergillus flavus* jellemzése

Az *A. flavus* (Link) a mezőgazdasági növények opportunistá kórokozója, különösen a magas olajtartalmú növények esetében, mint az olajos magvak, továbbá gabonák esetében például a kukorica és a cirok. A gomba a talajban konídiumok vagy szkleróciumok formájában, a növényi szövetekben pedig micéliumként marad fenn. A gombát számos éghajlati zónából izolálták, de gyakrabban fordul elő a 16° és 35° szélességi körök között a meleg éghajlati övezetekben, és nem gyakori a 45° szélesség felett (Klich 2007). A szkleróciumok évekig is életképesek maradnak a talajban, akár szélsőséges időjárási körülmények között is, ezek a szkleróciumok konídiumok termelésére is képesek, ami a populáció növekedéséhez vezet meleg és aszályos időjárási körülmények között (Wicklow et al. 1993; Payne 1998).

A szkleróciumok micéliummal csíráznak, amelyek aztán konídiumokat képeznek. A konídiumok levegőben történő szétszóródása a föld feletti növényi részek fertőzésével jár, míg a talajmozgás és a csapadék fontosabb lehet a földfelszín alatti növényi részek fertőzése esetén (Horn és Pitt 1997; Cotty 2001). A kolonizációt nemcsak a kedvező környezet (meleg és száraz időjárás), hanem a rovarok és a madarak által okozott károk másodlagos kórokozójaként léphet fel, amelyek bejutási helyeket biztosítanak a gombának (Horn és Pitt 1997; Payne 1998). A rovarok a növény nagyfokú fertőzésével jár.

PDA táptalajon az *A. flavus* micélium pigmentáltsága kezdetben fehér, majd a gombatelep idővel olíva-zöld konídiumokat képez. A telepek a táptalajt halványan elszínezik. A konídiumok gömbölyűek, konídiumtartón helyezkednek el.

### 3.3.2. Az *Aspergillus oryzae* jellemzése

Egyes kutatók úgy vélik, hogy az *A. oryzae* ((Ahlb.) Cohn) széles körben elterjedt a természetben, míg mások úgy gondolják, hogy az *A. oryzae* törzsek az *A. flavus* olyan változatai, amelyeket sok éves szelekcióval háziasítottak mesterséges környezetben. Az *A. oryzae* törzsek általában kevés konídiumot termelnek, továbbá pelyhes légmicéliumot alkotnak, és termelhetnek szkleróciumot is. Ezen jellemzők hiánya káros lehet az *A. oryzae* szabadföldi terjedésére és túlélésére. Bizonyítékok vannak azonban arra, hogy a szántóföldről nyert egyes nemafolatoxinogén *A. flavus* izolátumok az *A. oryzae* jellemzőivel rendelkeznek. Ezért az *A. oryzae* a tipikus *A. flavus* morfológiai változata lehet. Gazdasági és élelmiszerbiztonsági problémák miatt az *A. oryzae* továbbra is az *A. flavus*-tól különálló taxonként van besorolva. Az *A. oryzae* élelmiszer-fermentációs ipar általi biztonságos felhasználásának hosszú története és az aflatoxin-termelés hiánya GRAS (generally recognized as safe - általánosan biztonságosnak elismert) státuszt érdemelt ki (Chang és Ehrlich 2010).

Az *A. oryzae* és az *A. flavus* közötti fő különbségek túlnyomórészt a fejlődési jellemzőkkel, köztük a másodlagos anyagcseretermékek (mikotoxinok) hiányával kapcsolatosak. A nem aflatoxinogén *A. flavus* izolátumok a természetben széles körben elterjedtek, és egyes esetekben az *A. oryzae* izolátumokkal egy kládba csoportosulnak, más esetekben azonban külön csoportokat alkotnak (Cotty et al. 1994).

### 3.3.3. Az *Aspergillus* fajok aflatoxin termelésének kimutatása

Az *Aspergillus* nemzetség tagjai nem minden esetben termelnek mikotoxinokat. Az *A. flavus* populációk toxigenitása jelentősen változik a törzs, a szubsztrát és a földrajzi eredet függvényében. Sőt az *A. flavus* esetében is gyakran megfigyelt jelenség, hogy egy vagy több, a bioszintetikus géncsoportozáshoz tartozó gén mutálódik. Annak eldöntésére, hogy a kísérleti körülmények között megfigyelt *Aspergillus* fajok képes-e aflatoxin-termelésre, számos laboratóriumi megoldást dolgoztak már ki (Degola et al. 2007). Az aflatoxin bioszintetikus útvonala körülbelül 25 gént foglal magában, amelyek egy 70 kb-os DNS-régióban csoportosulnak. Az *A. flavus*, az *A. parasiticus* és más *Aspergillus Flavi* szekcióba tartozó fajok közel azonos szekvenciákkal és génrenddel rendelkeznek a klaszterben (Gallo et al. 2012). A közelmúltban több kutatócsoport tesztelte polimeráz láncreakción (PCR) alapuló diagnosztikai módszerek alkalmazásának lehetőségét az aflatoxin bioszintetikus gének expressziójának kimutatására (Degola et al. 2007). Az aflatoxin bioszintézis gének PCR kimutatásán alapuló vizsgálatok azonban nem hibátlanok, abból fakadóan, hogy nem képes kimutatni az esetleges mutációt a primerek célzott génszekvencia régióján kívül. Ennek következtében gyakran előfordulhatnak téves pozitív eredmények (Degola et al. 2007).

### 3.3.4. Az *Aspergillus* fajok esetében leírt gének, amelyek összefüggésben állnak az aflatoxin-termeléssel

Degola és munkatársai (2007) öt primer párt alkalmaztak az *aflD*, *aflR*, *aflS*, *aflO* és *aflQ* gének specifikus amplifikálására, amelyek kapcsolatba hozhatóak az *Aspergillus* fajok aflatoxin-termelésével. A kapott eredmények azt az általánosan elfogadott paradigmát támasztotta alá, mely szerint az *aflR* gén expressziója szükséges a toxin nagymértékű termeléséhez. Az *aflR* és az *aflS* gének szabályozó szerepe a szerkezeti gének expressziójának szabályozásában már korábban is bizonyított volt. A várakozásoknak megfelelően a megfigyelt strukturális génexpresszió követi az *aflR* és az *aflS* transzkripciót. Az *aflD*, az *aflO* és az *aflQ*, pedig az aflatoxin bioszintézis útvonal enzimeit kódolják, azonban vizsgálatuk során nem tapasztalták laboratóriumi használatuk előnyeit az aflatoxin klaszter más génjeivel összehasonlítva.

Gallo és munkatársai (2012) szintén a két szabályozó gént, az *aflR*-t és az *aflS*-t, valamint a szerkezeti géneket, az *aflD*-t, az *aflM*-et, az *aflO*-t, az *aflP*-t és az *aflQ*-t célzó primerpárokat

használtak az aflatoxin-termeléssel kapcsolatban álló gének vizsgálata során. Majd különböző csoportokban figyelték meg az említett gének jelenlétének és a csoportok aflatoxin-termelésének összefüggéseit. Megállapították, hogy csupán az olyan törzsek nem voltak képesek aflatoxin termelésére, amelyből a megfigyelt génekből három vagy több jelenléte hiányzott. Ezzel szemben az aflatoxin-termelő izolátumok mindegyike mutatta a teljes génkészletet. Tehát az aflatoxin bioszintetikus gének amplifikációjának hiánya következetesen összefüggésbe hozható volt a törzsek nem aflatoxinogén jellegével. Valamint esetükben az *aflO*, *aflP* és *aflQ* a nem aflatoxinogén izolátumok nagy számának amplifikált génjei voltak.

#### 3.4. A *Penicillium* nemzetségbe tartozó fajok jellemzése

A *Penicillium* fajok világszerte előfordulnak, és fontos szerepet játszanak a szerves anyagok lebontóiként, rothadásokat okoznak az élelmiszeriparban, ahol a mikotoxinok széles skáláját termelik. Továbbá egyes *Penicillium* fajok hasznos szervezetként is jelen lehetnek, mint például sajtkülönlegességek – camambert, roquefort –, továbbá erjesztett kolbászok előállításánál játszanak szerepet (López-Díaz et al. 2001; Perrone és Susca 2017). Az emberi egészség szempontjából ritkán társítják humán kórokozóként, mert 37 °C-on alig szaporodnak, míg a fő kockázatot a *Penicillium* nemzetség számos faja által termelt mikotoxinokkal szennyezett élelmiszerek fogyasztása okozza. A *Penicillium* fajokkal szennyezett terményekben és az abból előállított élelmiszerekben és takarmányokban különféle mikotoxinok fordulhatnak elő, a legfontosabbak az ochratoxin A (OTA) és a patulin; amelyekre számos országban előírnak szabályozást (EK 1881/2006; Perrone és Susca 2017).

A *Penicillium* modern fogalma Raper és Thom (1949) revízióiból származik, majd Pitt (1979) ismerte fel, aki négy alnemzetséget írt le, az *Aspergilloides*-t, a *Furcatum*-ot, a *Penicillium*-ot és a *Biverticillium*-ot. A *Biverticillium* alnemzetséget a morfológiai és ökológiai tényezők, valamint az anamorf-teleomorf kapcsolatok figyelembevételével a *Penicillium* nemzetségből külön nemzetséggé különítették el (Malloch 1985). A történetileg a *Penicillium sensu lato*-hoz köthető teleomorf nemzetségek a *Talaromyces* és az *Eupenicillium* (az egynév-nomenklatúrában ez utóbbit a *Penicillium sensu stricto* szinonimájának tekintik) (Houbraken és Samson 2011).

Taxonómiai besorolás szerint az *Ascomycota* törzsébe (aszkuszos gombák) a *Pezizomycotina* altörzsbe, az *Eurotiomycetes* osztályba, az *Eurotiales* rendbe azon belül pedig az *Aspergillaceae* családba tartoznak a *Penicillium* nemzetség tagjai (Mycobank 2024).

A fajok többsége nagyon kompetitív, sima falú konídiumokkal rendelkeznek; fontos metabolitokat/mikotoxinokat termelnek, mint a patulin, grizeofulvin, fulvosav, rokfortin C, ochratoxin A. Számos faj növényi kórokozó, mint például a *P. chrysogenum* (*syn. P. rubens*),

amelyek a cirok kórokozóiként is megjelennek (Rao et al. 2014; Sawant et al. 2019). PDA táptalajon a telepek gyorsan növekednek, élénk sárga pigmentekkel rendelkeznek, majd a táptalajt is sárgára színezik. A konídiumok ellipszoid alakúak és konídiumtartókon képződnek (Samson et al. 1977).

### 3.5. A fitotoxinok és jelentőségük

A fitotoxinok a gombák biokémiai reakciói során termelt másodlagos metabolitjai, amelyek a növényekre nézve mérgező anyagok. Ezen másodlagos anyagcseretermékek tulajdonságai, azon belül például a szerkezetük, a fitotoxikus aktivitásuk és a toxicitási módjuk tekintetében nagyfokú változatosságot mutatnak. Főleg az *Alternaria*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Helminthosporium* és *Phoma* nemzetségekhez tartozó fitopatogén gombafajokból izolálják őket. A fitotoxinok vagy gazdaspecifikus, vagy nem gazdaszervezet-specifikus anyagcseretermékek. Eddig legalább 545 gombás fitotoxikus másodlagos metabolitról számoltak be, köztük 207 poliketidről, 46 fenolról és fenolsavról, 135 terpenoidról, 146 nitrogéntartalmú metabolitról. Közülük az aromás poliketidek és a szeszkviterpenoidok a fő fitotoxikus vegyületek (Xu et al. 2021).

A gombák által termelt fitotoxinok fontos szerepet játszanak a növénykórokozók által okozott betegség tüneteinek kialakulásában, beleértve a levélfoltosságokat, a hervadást, a klorózist, a nekrozist, valamint a növekedés gátlását és elősegítését (Pontes et al. 2020; Chen et al. 2022). Kémiai és biológiai jellemzőik, valamint szerkezet-aktivitás viszonyok és hatásmechanizmusuk segíthetnek a növény-kórokozó kölcsönhatások mélyreható vizsgálatában.

A gombás fitotoxinok vagy gazdaspecifikus (HST) vagy nem gazdaszervezet-specifikus (NHST) toxinok. A gazdaspecifikus fitotoxinok (vagy úgynevezett gazdaszelektív toxinok) csak azon növények ellen hatásosak, amelyek a toxintermelő gombák gazdanövényei, és elengedhetetlenek a patogenitás szempontjából (Meena és Samal 2019). A gazdaspecifikus toxinokat főként az *Alternaria*, *Colletotrichum* és *Helminthosporium* növénykórokozó gombák termelik (Walton és Panaccione 1993; Tsuge et al. 2013). Egyes esetekben a gazdaszervezet érzékenységét gén-gén kölcsönhatások közvetítik, a fitotoxin-érzékenység pedig elengedhetetlen elem a betegség kialakulásához (Wolpert et al. 2002). Ezzel szemben a nem gazdaszervezet-specifikus fitotoxinok (vagy nem gazdaszervezet-szelektív toxinok) a gazdakör elsődleges meghatározói, és nem nélkülözhetetlenek a patogenitás szempontjából, bár hozzájárulhatnak a virulenciához. Ezek a fitotoxinok szélesebb hatásspektrummal rendelkeznek, nemcsak a kórokozó gombák gazdanövényein, hanem más növényfajokon is okoznak tüneteket (Strange 2007).

A fitotoxikus enniatin származékok közé tartozik az A, A1, B és B1. A különféle *Fusarium* fajokban előforduló ciklopepsi-peptidek osztályába tartoznak, és a D-2-hidroxi-izovaleriánsav és egy elágazó láncú N-metil-L-aminosav váltakozó maradékaiból állnak, amelyeket peptid- és észterkötések kötnék össze. Az enniatin származékok a gazdaszervezet nem specifikus toxinjai, amelyek hervadást és nekrozist okoztak a gazdaszervezet fertőzése során, valószínűleg ionofórikus tulajdonságaikkal összefüggésben (Hornbogen et al. 2002).

A fuzársavat (más néven 5-butil-pikolinsav) a *F. oxysporum* fajtól izolálták, amely mérgező a dohánylevelekre (Reveglia et al. 2018). A fuzársavat számos *Fusarium* faj termeli, amelyek az egyes gabonafélék szempenészedéséért felelősek (Wang és Ng 1999). A *F. nygamai* fajtól mind a fuzársavat, mind a 9,10-dehidrofuzársavat izolálták, ez a két vegyület nagyfokú klorozist és nekrozist mutatott a paradicsomleveleken, valamint erősen gátolta a paradicsompalánták gyökérnövekedését (Capasso et al. 1996).

### 3.6. A mikotoxinok és jelentőségük a növényegészségügyben

A mikotoxinok a penészgombák által termelt másodlagos metabolitok, amelyek káros humán- és állategészségügyi hatásokkal rendelkeznek. Farmakológiai aktivitásuk miatt egyes mikotoxinokat vagy mikotoxin-származékokat antibiotikumként, növekedésserkentőként és egyéb gyógyszerként alkalmaznak. Ezeket a másodlagos metabolitokat számos gombanemzetség tagjai termelhetik, köztük az *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Stachybotris* és *Penicillium* fajok. Ilyen mikotoxinok lehetnek az aflatoxinok, citrinin, ergot alkaloidok, fumonizinek, ochratoxin A, patulin, trichotecének és zearalenon (Bennett és Klich 2003; Leslie et al. 2021). A mikotoxinok kémiaiilag igencsak stabil szerkezettel rendelkező vegyületek, ezért feldolgozás során sem, vagy csak kis mértékben károsodnak. Elszaporodásuk és az általuk okozott szennyezettség mértéke azonban nagyban függ számos környezeti tényezőtől. A mikotoxin termelés mennyiségét nagyban befolyásolja a csapadék mennyisége, a hőmérsékleti viszonyok, sőt akár az esetleges rovarkártétel is. (Leslie et al. 2021). Az éghajlati változások, például a hőmérsékletváltozások és a kedvezőtlen csapadékeloszlás miatt a szántófeldön és a tárolás során is növekedhet a mikotoxin-szennyeződés kockázata a szemesterményekben. Számos éghajlatváltozási scenárió jelzi előre az élelmiszerek és takarmányok mikotoxin-szennyezettségének növekedését, bár a mikotoxin-prediktív modellek jelenleg is kidolgozás alatt állnak (Paterson és Lima 2011; Perrone et al. 2020; Chhaya et al. 2022). A gabonafélék mikotoxin-szennyezettsége veszélyeztetheti az élelmiszer- és takarmánybiztonságot, bár a szennyeződés mértéke az éghajlatváltozás és a különböző mezőgazdasági gyakorlatok függvényében változhat. Az élelmiszerek és takarmányok mikotoxin-szennyezettségének megengedett határértéke szabályozás alatt áll az Európai Unióban és Magyarországon egyaránt (EK 1881/2006; Leslie et al. 2021).

A szántóföldi penészgombák a magas nedvesség tartalmú gabona mellett kedvelik a nagy vízakaktivitású közeget is. A toxintermelés aktivitása számtalan dolog függvénye lehet, előidézheti a helytelen növényápolás és növényvédelem, egyes agrotechnikai hibák, a nem megfelelő vetésforgó kialakítása stb. A vetésváltásban a gabonák gyakori beillesztésének kórokozó gomba jelenlétét növeli, különösen a *Fusarium* nemzetségbe tartozó fajokat. Ezek a gombafajok képesek a növényi maradványokon fejlődni és a talajban is fennmaradni (Mielniczuk és Skwarylo-Bednarz 2020). Energiakímélő művelési rendszerek alkalmazása, mint a talajművelés csökkentése, beleértve a közvetlen művelést is (vetés), a növényi maradványok rosszabb talajtakarását okozza, amely elősegítheti a szaprofita gombák fejlődését. A növényi maradványokban klamidospórával, vagy micéliummal képesek áttelelni a *Fusarium* nemzetség fajai, ezen fajok, amelyek veszélyeztetik a termés hozamot, valamint a kultúrnövény minőségét, beltartalmi értékeit (Bottalico és Perrone 2002; Maresca 2013). A *Fusarium* nemzetség gombái által termelt mikotoxinok rendkívül veszélyesek a humán- és haszonállatok szervezetére. A deoxinivalenol és a zearalenon a leggyakrabban csöpnészedést, kalászfuzáriózist, szempenészedést/bugapenészedést okozó *Fusarium* fajok által termelt mikotoxinok Európában (Maresca 2013).

### 3.6.1. A *Fusarium* fajok által termelt mikotoxinok és szabályozásai

A *Fusarium* spp. az egyik fő gombanemzetség, amely másodlagos anyagcsere-termékként mikotoxinokat termel, amely az élelmiszer- és takarmánylánc biztonságát kockáztatja. A *Fusarium* nemzetség tagjai a kémiaiösszetételben igen változatos mikotoxinok széles skáláját képesek előállítani, beleértve a B típusú trichotecéneket (TCTB) (deoxinivalenol, nivalenol és acetilezett formáik), az A típusú trichotecéneket (TCTA) (DAS, T-2 és HT-2 toxinokat), a zearalenont (ZEA), a fumonizineket (FBs) továbbá az úgynevezett feltörekvő mikotoxinokat mint például a beauvericint (BEA), az enniatinokat (ENNs) és a moniliformint (MON) (Bottalico és Perrone 2002; Miller 2008; Ji et al. 2019; Rai et al. 2020).

Az FGM-hez kapcsolódó *Fusarium* fajok közül a *F. proliferatum* és a *F. verticillioides* aggodalomra ad okot, mivel ez a két faj jól ismert **fumonizin** termelő (Wang et al. 1991, Nelson et al. 1992; Leslie et al. 1992). A fertőzés során a *F. proliferatum* másodlagos metabolitokat, mikotoxinokat szintetizál, amelyek gyengítik a gazdaszervezet védekező mechanizmusait. A *F. proliferatum* számtalan mikotoxint termelhet, például beauvericint, fusaproliferint, moniliformint, fuzarinsavat és fuzarinokat, de ezek közül a fumonizin B toxinok a legelterjedtebbek (Stępień 2014; Wang et al. 2022; Lalak-Kańczugowska et al. 2023). A fumonizinek toxicitását széles körben dokumentálták. A szfingolipidek analógjaiként a fumonizinek gátolhatják a ceramid-szintáz aktivitását, ami a szfingolipidek metabolizmusában zavarokhoz és elhulláshoz vezethet haszonállatok esetében (Chen et al. 2021). Epidemiológiai vizsgálatok azt is feltárták, hogy a

fumonizinek kockázati tényezői lehetnek a nyelősőrának az emberek esetében (Gelderblom et al. 1988; Asai et al. 2000; Wang et al. 2000; Marasas et al. 2004). Az Európai Bizottság EK 1881/2006-os rendelete alapján a fumonizin B1 és B2 összege esetében feldolgozatlan kukorica esetében 2000 µg/kg, a feldolgozott kukorica esetében 1000 µg/kg, közvetlen emberi fogyasztásra szánt kukoricaalapú élelmiszerek esetében 400 µg/g, csecsemők és kisgyeremek számára készült feldolgozott kukorica alapú élelmiszerek és bébiételek esetében 200 µg/kg határértéket szabott meg. A szabályozás nem terjed ki a szemes cirok esetében a humán élelmezési vagy takarmány, alapanyagok szennyezettségének határérékeire.

A **zearalenon** (ZEA) a *Fusarium* nemzetség *F. sambucinum* és a *F. equiseti-incarnatum* fajkomplexbbe tartozó egyes fajok által termelt ösztrogén hatású vegyület. *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. cerealis*, *F. equiseti*, *F. crookwellense* és *F. semitectum* (*syn. F. cf. incarnatum*) gombák fertőzése esetén számolhatunk zearalenon szennyezettséggel a gabonafélék esetében (Gadzała-Kopciuch et al. 2011; Rai et al. 2020). A zearalenont ugyanazok a gombák termelik, amelyek B típusú trichotecéneket termelnek, ezért gyakran előfordul a DON-nal vagy a NIV-vel együtt (Munkvold 2017). Az emberi szervezet közvetlenül a szennyezett élelmiszerek révén, vagy közvetve a mikotoxinok kitett állati eredetű termékeken keresztül kerülhet kapcsolatba a zearalenonnal (Caldwell et al. 1970). Annak ellenére, hogy laktongyűrűje van, a ZEA köztudottan 150 °C-ig hőstabil, és nem bomlik le az élelmiszer- és takarmányfeldolgozás során sem (Yumbeguevara et al. 2003). Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (European Food Safety Authority, EFSA) 0,25 µg/kg tolerálható napi bevitelt (TDI) javasolt a ZEA esetében (EFSA 2011). A toxin szervezetbe jutást követően képes felhalmozódni a különböző szövetekben (Brera et al. 2014). A ZEA-nak való kitettség indukálhatja a progeszteron, ösztadiol, tesztoszteron és kortizol termelését a szervezetben. Ebből kifolyólag nemcsak a ZEA, hanem annak metabolitjai is endokrin rendszert károsító anyagként viselkedhetnek és szaporodásbiológiai zavarokat okozhatnak mind az állatok, mind az emberek esetében (Bennett és Klich 2003; Yang et al. 2007; Wang et al. 2014a). A feldolgozatlan gabonafélék esetében a megengedett határérték 100 µg/kg, kivéve a kukoricát, a kukorica esetében ez az érték 200 µg/kg. Közvetlen emberi fogyasztásra szánt gabonafélék esetében 75 µg/kg, kukorica esetében 200 µg/kg a megengedett határérték. A kenyér, pékáruk, gabonapelyhek esetében 50 µg/kg, csecsemők és kisgyermekeknek szánt feldolgozott gabonaalapú és kukoricaalapú élelmiszerek esetében 20 µg/kg-ra vonatkozik a szabályozás (EK 1881/2006).

A *Fusarium* nemzetségbe tartozó fajok termelhetnek **trichotecéneket** is, jellemzően a *F. sambucinum* és a *F. incarnatum-equiseti* komplex fajai. Körülbelül 170 toxin tartozik a trichotecének közé, melyek mindegyike alacsony molekulatömeggel és hasonló kémiai alapszerkezettel rendelkezik (Mahato et al. 2022). A TCN-ek azonban szerkezetük alapján négy

kategóriába sorolhatók, A, B, C és a D típusba. A *Fusarium* fajok csak A és B típusú trichotecéneket termelnek (Desjardins 2006; Munkvold 2017; Ferrigo et al. 2022). Az A típusú trichotecének (TCTA) közé sorolhatjuk a T-2-t, HT-2-t, trichodermint, diacetoxiscirpenolt (DAS), neoszolaniolt (NEO) és a harzianum A-t. A B típusba (TCTB) tartoznak a deoxinivalenol (DON), nivalenol (NIV), fusarenon X és trichotecinek, továbbá a deoxinivalenol acetyl formái a 3-acetyl-deoxinivalenol (3ADON) és a 15-acetyl-deoxinivalenol (15ADON). A trichotecének által okozott mérgezés elnyomja az immunválaszt humán és a haszonállatok szervezetében a sejtfunkció megfelelő működésének gátlásával. Gátolja a fehérjeszintézist, a mitokondriumok működését, a sejtosztódást, a sejtmembrán működését és elősegíti az apoptózist (Rocha et al. 2005). A TCTB toxinok közül a DON-toxin széles körben elterjedt, és a terményekben igen gyakran megfigyelhető jelenléte (Polak-Śliwińska és Paszczyk 2021; Savignac et al. 2022). Az EU szabályozásai alapján a DON megengedett határértéke 1250 µg/kg a feldolgozatlan gabonafélékben, 1750 µg/kg a feldolgozatlan zab és durum búza esetében, 750 µg/kg a közvetlen emberi fogyasztásra szánt feldolgozott élelmiszerekben, 500 µg/kg a gabonapelyhekben, valamint 200 µg/kg határértéket szabtak meg a gabonaalapú csecsemőknek és kisgyermekeknek szánt élelmiszerekre (EK 1881/2006).

A **fuzársav** (5-butyl-picolinsav) egy gyakori mikotoxin, amelyet számos *Fusarium* faj termel a toxinnak számos származékai is jelen lehetnek a termelés során. A *F. fujikuroi* fajkomplex tagjai is képesek fuzársavat termelni, továbbá a *F. solani* fajkomplex törzsei, a *F. crookwellense* és a *F. sambucinum* is termelhetik. A toxin gátolja a DNS-szintézist, de a fuzársav akut toxicitása nagyon alacsony, azonban fokozza számos más *Fusarium* fajok által termelt mikotoxin, köztük a fumonizinek, zearalenon, deoxinivalenol, diacetoxiscirpenol és T-2 toxin aktivitását (Bryden et al. 2001). Így a fuzársavnak, mint mikotoxinnak a legnagyobb jelentősége más, akutabban mérgező vegyületekkel való kölcsönhatása lehet. Viszonylag alacsony toxicitása miatt kevés erőfeszítést tettek a fuzársav terményekben és élelmiszerekben való előfordulásának dokumentálására. Egyes fuzársav-termelő fajok, például a *F. proliferatum* és a *F. oxysporum* széles gazdakörrel rendelkeznek, és valószínű, hogy a fuzársav gyakori a különböző haszonnövényekben és élelmiszer- vagy takarmánytermékekben egyaránt (Munkvold 2017).

A **moniliformin** (MON) az 1-hydroxiciklobut-1-én-3,4-dion kálium- vagy nátriumsója, és a *Fusarium* fajok egyedülálló metabolitja. Különböző szántóföldi mikotoxikózisokban érintett, különösen baromfi esetében. A moniliformin termelés a *Fusarium* fajok között elterjedt *F. moniliforme*-ről nevezték el. A moniliformin termeléssel eredetileg kapcsolatba hozható törzseket később *F. proliferatum* és *F. nygamai* néven azonosították. A *F. fujikuroi* fajkomplexumban számos törzs termel moniliformint, de a *F. verticillioides* faj nagyon ritkán termeli ezt a toxint. A



moniliformin gyors elhullást okozhat baromfi- és sertés állományok esetében. A toxikológiai hatások közé tartozik a fehérjeszintézis gátlása, a citotoxicitás és a kromoszómakárosodás. Az elsődleges hatásmechanizmus a mitokondriális légzés gátlása (Bryden et al. 2001) és a szívizom mitokondriumainak károsodása, ami egyes esetekben akut pangásos szívelégtelenséget eredményez. A kísérleti emlősökön és baromfikon végzett laboratóriumi vizsgálatok során előidézett tünetek közé tartozik a testtömeg csökkenése, a bélvérzés, a kóma és az elhullás (Jestoi 2008). A moniliforminról azt gyanítják, hogy több különböző baromfibe betegségben is szerepet játszik, köztük az ascitesben, a szívbetegségben és a „kiugró mortalitási szindrómában”. Az emlősök kevésbé érzékenyek, mint a baromfik (Munkvold 2017).

A **fuzarinek** a mikotoxinok egy csoportja, amelyek poliketid vázon osztoznak, a 2-pirrolidon részénél különféle szubsztitúciókkal. Ebben a csoportban a **fuzarin C** volt az első vegyület, amelyet leírtak, majd ezt követte a **fuzarin A, D, E és F** (Desjardins 2006). A *F. verticillioides*-ből (*F. moniliforme* néven) a fuzarin C-t bakteriális mutagén aktivitás alapján azonosították. A fuzarinokat néhány faj termeli, amelyek több fő fajkomplexumban szétszórva találhatóak. A fuzarinok trichotecénekkal és fumonizinekkel együtt is előfordulhatnak (Desjardins 2006; Han et al. 2014). A fuzarinokat nem hozták összefüggésbe semmilyen ismert mikotoxikózissal emberben vagy állatállományban, de a fuzarin C-ről kimutatták, hogy mutagén, és kromoszómák felbomlását okozza emlős sejtenyészetekben (Desjardins 2006). Beszámoltak arról, hogy a fuzarin C környezeti hőmérsékleten instabil (Bryden et al. 2001), ez korlátozhatja szerepét a toxikológiai eredményekben.

A **beauvericin** (BEA) és az **enniatinok** (ENNs) szorosan rokon ciklikus hexadepszipeptidek, amelyeket különböző *Fusarium* fajok termelnek. Legalább 29 enniatin analóg létezik, de ezek közül nem mindegyiket a *Fusarium* nemzetség tagjai termelik. Legalább hét analógot (enniatin A, A1, B, B1, B2, B3 és B4) találtak gabonafélékben, amelyek *Fusarium* fajok másodlagos anyagcseretermékei; a leggyakoribbak az A, A1, B és B1 enniatinok. A beauvericint eredetileg a *Beauveria bassiana* entomopatogén gombából azonosították, de a *Fusarium* fajok gyakori metabolitjai is (Munkvold 2017). A *F. fujikuroi* fajkomplexum számos tagja (Bottalico et al. 1995; EFSA CONTAM 2014) képes beauvericint termelni, de a *F. verticillioides* jellemzően nem termeli ezt a vegyületet, azonban számos más faj másodlagos anyagcseretermékeként megjelenhet, ezek a fajok a *F. acuminatum*, *F. armeniacum*, *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. sambucinum* és *F. sporotrichioides*. Így a beauvericint nagy részben fumonizin-termelő és trichotecén-termelő fajok állítják elő (Bottalico et al. 1995; Moretti et al. 1996). A beauvericin és az enniatinok antimikrobiális hatásúak, számos rovarfajra toxikusak, továbbá a rovarokra és emberekre nézve citotoxikus hatásúak (Jestoi 2008). A rágcsálókra és más kísérleti emlősökre

gyakorolt akut toxicitás alacsony, és számos baromfikkal végzett vizsgálat alacsony érzékenységet mutatott beauvericinre és enniatinokra (Jestoi 2008; EFSA 2014). A beauvericin gabonanövényekben való előfordulását először 1993-ban jelentették *F. subglutinans*-szal fertőzött lengyelországi kukoricából. Ezt követően más európai országokban kukoricából, az USA-ból (az állati takarmányból is), Mexikóban, Dél-Afrikában és Argentínában, több európai országban gabonafélékből, Iránban és Észak-Afrikában pedig rizs esetében számoltak be a toxin jelenlétéről. Az enniatin-szennyezettségről elsősorban gabonafélék esetében számolták be Európában, számos magas előfordulási aránnyal (Jestoi 2008; Munkvold 2017).

Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA 2014) 12 európai országra kiterjedő tanulmányában a beauvericint a feldolgozatlan gabonaminták 54%-ában, a takarmányminták 21%-ában és az élelmiszerminták 20%-ában mutatták ki. Enniatinokat a feldolgozatlan gabonaminták 76%-ában, a takarmányminták 68%-ában és az élelmiszerminták 37%-ában mutattak ki. A beauvericin és a négy enniatin előfordulása erősen korrelált. Valójában a legtöbb jelentésben a beauvericin enniatinekkal és gyakran más mikotoxinokkal együtt fordult elő, különösen moniliforminnel és fumonizinekkal, de trichotecénekkal, fuzaproliferinnel és zearalenonnal is. Az EFSA-tanulmányban az emberek és számos állatfaj kitettséget becsülték meg a beauvericinnek és az enniatinoknak. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy nincs jele az emberi egészséggel kapcsolatos aggályoknak, és hogy a becsült expozíciós szintek mellett nem valószínű az állatállományra gyakorolt toxikus hatás, de hangsúlyozták, hogy az adatok hiánya jelentős bizonytalanságot ad az ezekkel a vegyületekkel kapcsolatos kockázatokat illetően.

A **fuzaproliferin** egy biciklusos szeszterterpén, az első olyan, amelyet a *Fusarium* fajok által termelt toxinok közül azonosítottak (Ritieni et al. 1995). A dezacetilezett forma szintén egy természetesen előforduló metabolit a toxin neve a *F. proliferatum* nevéből származik, amely az első olyan faj, amelyről felismerték, hogy képes a vegyület termelésére. A *F. fujikuroi* fajkomplexben további fuzaproliferint termelő fajok találhatóak. A fuzaproliferin szerepe a természetben előforduló mikotoxikózisban nem tisztázott, de a sertések takarmány-visszautasítása esetében tapasztalták a sertésállományra gyakorolt hatását, ahol nem volt kimutatható deoxinivalenol vagy egyéb trichotecén vegyület (Munkvold et al. 1998). A fuzaproliferin gyakran előfordul a kukoricában beauvericinnel, enniatinokkal vagy fumonizinekkal, de esetenként trichotecénekkal is (Munkvold 2017).

A *Fusarium* fajok számos további kevésbé elterjedt vagy kevésbé ismert mikotoxint termelnek, amelyek megtalálhatók a kukoricában vagy a gabonaszemekben, és jelentős toxikológiai következményekkel járhatnak (Munkvold 2017).

A moniliformin, az enniatinok, a beauvericin és a fuzaproliferin az úgynevezett feltörekvő mikotoxinok kategóriájába tartozik, mivel jelenleg sincs rájuk vonatkozó szabályozás vagy javaslat a szabályozó hatóságok részéről, továbbá igencsak kevés tudományos kutatás áll rendelkezésünkre ezen toxinok jelentőségéről és jelenlétéről a takarmány- és élelmiszerláncban (Jestoi 2008; EFSA 2014; De Felice et al. 2023).

### 3.6.2. Az *Aspergillus* fajok által termelt mikotoxinok és jelentőségük

Az *Aspergillus* nemzetség *Flavi* szekciója által termelt mikotoxinok káros hatással vannak mind az állati-, mind az emberi szervezetre. Ezen mikotoxinok közé tartoznak az aflatoxinok, a szterigmatocisztin, az ochratoxinok, a fumonizinek, a patulin, a gliotoxin és a ciklopizonsav (Samson et al. 2014). Az említett toxinokat először az *A. flavus*-ban, az *A. ochraceus*-ban és az *A. clavatus*-ban azonosították. A kutatások azt mutatják, hogy sok más *Aspergillus* faj képes előállítani ezeket a vegyületeket. Az ochratoxin-szennyezettség fontosságát a közelmúltban fedezték fel, mivel ez a legjelentősebb mikotoxin egyes élelmiszer alapanyagok esetében. Egyes kutatások kimutatták, hogy az ochratoxin számos európai ember szervezetében megtalálhatóak (Pitt 2000). Az aflatoxint többek között az *A. flavus* és az *A. parasiticus* is termelheti. Az aflatoxinok világszerte komoly közegészségügyi problémákat okozhatnak. Számos tanulmány kimutatta, hogy az aflatoxinok, különösen az aflatoxin B1 rákkeltő hatást fejtenek ki a haszonállatok (főleg a baromfi) esetében, és a tejben és tojásban kiválasztódó aflatoxinok számos egészségügyi problémát okozhatnak (Eaton és Gallagher 1994). Az *Aspergillus* nemzetség tagjainak vizsgálata kiemelkedően fontos az élelmiszerbiztonság szempontjából, hiszen a növényvédelem és az élelmiszerlánc-biztonság kéz a kézben jár (Battilani et al. 2012; Körösi et al. 2016).

Az **aflatoxinokat** számos szakirodalom a legerősebb természetes karcinogének közé sorolja (Udomkun et al. 2017; Rushing és Selim 2019; Schwartz-Zimmermann et al. 2019). A négy legtöbbet kutatott és humán vonatkozásban is legfontosabb csoportja az aflatoxin B1 és B2, valamint az aflatoxin G1 és G2, melyeket az *Aspergillus* nemzetségbe tartozó gombafajok termelnek. Legalább 20, az *Aspergillus* nemzetségbe sorolható gombafajról bizonyítottan tudjuk, hogy képesek aflatoxin termelésre (Samson et al. 2014). Azonban jellemzően az *A. flavus*, illetve az *A. parasiticus* okozzák a legjelentősebb gazdasági és egészségügyi kockázatot (Carvajal-Campos et al. 2017; Schwartz-Zimmermann et al. 2019). Az aflatoxin termelésre képes penészgombák jellemzően előnyben részesítik a magas páratartalom és hőmérsékleti viszonyokat. Ennek megfelelően az ilyen éghajlati adottságok, melyek főleg a szubtrópusi és trópusi éghajlatra jellemzők, kedveznek az aflatoxin termelődésének (Peraica et al. 1999; Pretari et al. 2019). Ez az általánosság az elmúlt években tapasztalható éghajlatváltozás következtében azonban megdőlni

látszik. Nem ritka jelenség az sem, hogy a *Fusarium* és *Aspergillus* nemzetség okozta gombafertőzés egyszerre jelenjen meg egyazon szemtermésen, hiszen közel azonos hőoptimummal rendelkeznek. Ráadásul ez esetben könnyen előfordulhat szinergizmus is, mely során a két mikotoxin jelenléte serkenti egymás hatását (Kubena et al. 1997). A mikotoxinok természetes előfordulását a cirokban és a cirokból származó termékekben főként Ázsiában és Afrikában termesztett cirokban vizsgálták, ahol a cirkot főként emberi fogyasztásra használják (Astoreca et al. 2019). Ezen a két kontinensen az *A. flavus* által termelt aflatoxin és a fumonizin szennyezettségről számoltak be leggyakrabban (Ssepuuya et al. 2018; Astoreca et al. 2019). A gabonafélék esetében az aflatoxin B1-gyel szennyezett tételek határértékét 2 µg/kg, az összes aflatoxin mértékét 4 µg/kg, a kukorica esetében az AFB1-gyel szennyezett tételek határértékét 5 µg/kg, az összes aflatoxin összegének mértékét 10 µg/kg-ban állapították meg (EK 1881/2006).

Az **ochratoxin** egy erős vesekárosodást előidéző anyag, amely előfordulhat olyan élelmiszerekben és takarmányokban, mint a hüvelyesek, gabonafélék, szárított gyümölcsök, kávé, sör, bor és húsok (Susca et al. 2007). Különösen a trópusi és szubtrópusi területek alkalmasabbak az *Aspergillus* fajok számára az ochratoxin termelésére, míg a *Penicillium* fajok inkább viszonylag alacsony hőmérsékleten szintetizálják ezen vegyületeket. Kémiai szerkezetük alapján az ochratoxinok elsősorban három típusba sorolhatók: ochratoxin A (OTA), ochratoxin B (OTB) és ochratoxin C (OTC). Közülük az OTA-t tartják a legnagyobb mennyiségben előforduló és legmérgezőbbnek (Wang et al. 2022). Az IARC 1993-ban potenciális humán rákkeltő anyagként (2B csoport) határozta meg az ochratoxin A-t, hepatotoxikus, teratogén, immuntoxikus és nefrotoxikus hatással (IARC 1993). Az ochratoxin A egy mérsékeltén stabil molekula, amely túlélheti az általános élelmiszer-feldolgozást, és nehezen semlegesíthető, ha az élelmiszereket szennyezi (Chen et al. 2021). Az Európai Unióban az OTA megengedett maximális szintjét 3 µg/kg-ban határozták meg a gabonafélékben és gabonakészítményekben, 2 µg/kg-ban a borbán és a szőlőlében, valamint 0,5 µg/kg-ban a csecsemőknek és gyermekeknek szánt bébiételekben (EK1881/2006).

### 3.6.3. A *Penicillium* fajok által termelt mikotoxinok és jelentőségük

Az **ochratoxin A** (OTA) az *Aspergillus* és *Penicillium* gombák több faja által termelt mikotoxin. Ennek a molekulának számos toxikológiai hatása lehet, például nefrotoxikus, hepatotoxikus, neurotoxikus, teratogén és immunotoxikus. Ami a *Penicillium* nemzetséget illeti, a *P. verrucosum* a raktározott gabonafélékben található ochratoxin A fő termelője (Lund és Frisvad 2003), míg a *P. nordicum* (Larsen et al. 2001) a hústermékekben, például szalámiban és sonkában található fő OTA termelő. Ezt a két fajt a sajtokon is megtalálták, de csak a svájci keménysajtokon fordult elő nagy gyakorisággal. Chen és mtsai. (2013) beszámoltak arról, hogy az olyan fajok, mint

a *P. chrysogenum*, a *P. glycyrrhizicola* és a *P. polonicum* képesek OTA-t szintetizálni friss vagy száraz édesgyökéren. Az OTA megengedett határértéke feldolgozatlan gabonafélék esetében 5 µg/kg, feldolgozott gabonafélék és belőlük előállított termékek esetén 3 µg/kg (EK 1881/2006).

A **patulin**, az *Aspergillus*, *Penicillium* és *Byssochlamys* számos faja által termelt genotoxikus mikotoxin, a leggyakoribb mikotoxin az almában és az almából származó termékekben (Puel et al. 2010). További gyümölcsöket is szennyezhet, például szőlőt, narancsot, körtét és őszibarackot egyaránt. A patulin sejtszintű hatásai közé tartozik a reaktív oxigénfajták (ROS) kialakulása, a sejtciklus leállása és a citokróm c felszabadulása a mitokondriumokból. A patulin DNS-károsodást okoz, és mutagén, rákkeltő és teratogén (Reddy et al. 2010). A patulin megengedett határértéke gyümölcslevelek esetében 50 µg/kg (EK 1881/2006).

Számos más mikotoxin-termelésére is képesek a *Penicillium* fajok, amelyek jelenleg nem állnak szabályozás alatt (EK 1881/2006). Ilyen toxin például a **citreo viridin** (CTV), amely szívelégtelenséget okozhat és gabonaféléket fertőző *Penicillium* fajok termelhetik (Reddy et al. 2010). A **citrinin** nefrotoxin, de valószínűleg kisebb jelentőségű, mint az ochratoxin A; toxicitási vizsgálatok kimutatták, hogy állatokon nefrotoxinként hat a vese proximális tubulusainak károsítása révén (Phillips et al. 1980). A *Penicillium*, *Aspergillus* és *Monascus* nemzetséghez tartozó számos fonalas gomba termeli, amelyek gabonákban fordulnak elő, továbbá élelmiszerekben, takarmányokban és biológiai folyadékokban is megjelenhetnek. Először a *P. citrinum* fonalas gombából izolálták, amelyet világszerte citrinin-termelőként azonosítottak az élelmiszerekben (Pitt és Hoacking 2022). A **ciklopizonsav** (CPA) egy erős mikotoxin, amely magas koncentrációban fokális nekrozist okoz a legtöbb gerinces belső szerveiben. Kimutatták, hogy súlyos hatást gyakorol a Turkey X betegségben szenvedő pulykák izomzatára és csontjaira, a földimogyoró aflatoxin-szennyezésével összefüggésben (Jand et al. 2005). A *P. camamberti* és a *P. palitans* a CPA fő termelői, és megtalálhatók a hús- és sajtermékekben (Frisvad és Samson 2004). A CPA a hosszú ideig tárolt gabonafélék és gabonatermékek, például tészták szennyezője is lehet, amelyet a *P. griseofulvum* előfordulása okoz (Pitt és Hoacking 2022). A **penicilsav** és a **dehidropenicilsav** kis méretű toxikus poliketidek, de nincs jelentős toxicitásuk, sőt mikotoxikológiai szerepük az OTA-val való esetleges szinergikus toxikus hatásukhoz köthető (Stoey et al. 2001). A fő penicilsav termelő faj a *P. aurantiogriseum*, a *P. cyclopium*, a *P. melanoconidium* és a *P. polonicum* (Frisvad és Samson 2004). A **rokkfortin C** neurotoxikus (bénító) tulajdonságokkal rendelkező mikotoxin (Wagener et al. 1980), de a rokkfortin C akut toxicitása nem túl magas, ezért számos kutatásban megkérdőjelezték mikotoxin mivoltát (Frisvad et al. 2006). Mindazonáltal nagyon elterjedt gombás metabolit, előfordulására vonatkozó vizsgálatok azt mutatják, hogy a *P. roqueforti*-val szennyezett szilázsban nagy gyakorisággal

fordul elő (Auerbach et al. 1998); és számos faj termeli, mint például a *P. chrysogenum*, *P. hordei*, *P. crustosum*.

Mindezekmellet még számos más kisebb jelentőségű mikotoxinokat képesek termelni a *Penicillium* nemzetség tagjai, például mikofenolik savat, rubratoxint, PR toxint, verrukozidint (Perrone és Susca 2017).

## 4. Anyag és módszer

### 4.1. Szemes cirok minták belső szennyezettségének vizsgálata mikotoxin-termelő gombák vonatkozásában

#### 4.1.1. A kísérlet növényi anyaga

A cirok szemtermések mintagyűjtése a 2021-es és 2022-es évben történt. A 2021-es évben 12 különböző termőhelyről gyűjtöttünk Magyarországot 6 régióját lefedve. A szemtermések két különböző genotípusba tartozó növényekről származtak (4. táblázat; 1. ábra). A 2022-es évben a szemtermések egy termőhelyről származtak, a 2021-es minták eredményei alapján a Dél-Alföldi régiót választottuk ki, ahol a mikotoxin-termelő gombák előfordulása a leggyakoribb volt (4. táblázat; 1. ábra). A 2022-es évben 6 különböző genotípust vizsgáltunk, a 6 különböző genotípus között szerepelt a 2021-es év két genotípusa is.



1. ábra: A cirok szemtermések mintagyűjtésének helyei a 2021-es és 2022-es évben (Fotó: Saját szerkesztés, 2024)

4. táblázat: A mintagyűjtések helyszínei, a szemes cirok genotípusai és a minták kódjai a 2021-es és a 2022-es évben

Helyiség	Koordináták	Gyűjtés éve	Régió	Genotípus	Kód
Adács	47.69173 N, 19.97778 E	2021	Észak-Magyarországi Régió	G1	SL1
Adács	47.69173 N, 19.97778 E	2021	Észak-Magyarországi Régió	G2	SN1
Gyékényes	46.24063 N, 16.99019 E	2021	Dél-Dunántúli Régió	G1	SL2
Gyékényes	46.24063 N, 16.99019 E	2021	Dél-Dunántúli Régió	G2	SN2

Hedrehely	46.19643 N, 17.65159 E	2021	Dél-Dunántúli Régió	G1	SL3
Hedrehely	46.19643 N, 17.65159 E	2021	Dél-Dunántúli Régió	G2	SN3
Hódmezővásárhely	46.41830 N, 20.32955 E	2021	Dél-Alföldi Régió	G1	SL4
Hódmezővásárhely	46.41830 N, 20.32955 E	2021	Dél-Alföldi Régió	G2	SN4
Kapoly	46.72814 N, 17.97106 E	2021	Dél-Dunántúli Régió	G1	SL5
Kapoly	46.72814 N, 17.97106 E	2021	Dél-Dunántúli Régió	G2	SN5
Kissomlyó	47.14468 N, 17.10275 E	2021	Nyugat-Dunántúli Régió	G1	SL6
Kissomlyó	47.14468 N, 17.10275 E	2021	Nyugat-Dunántúli Régió	G2	SN6
Mezőberény	46.82367 N, 21.03191 E	2021	Dél-Alföldi Régió	G1	SL7
Mezőberény	46.82367 N, 21.03191 E	2021	Dél-Alföldi Régió	G2	SN7
Mezőhegyes	46.31181 N, 20.81546 E	2021	Dél-Alföldi Régió	G1	SL8
Mezőhegyes	46.31181 N, 20.81546 E	2021	Dél-Alföldi Régió	G2	SN8
Nagyréde	47.76477 N, 19.84886 E	2021	Észak-Magyarországi Régió	G1	SL9
Nagyréde	47.76477 N, 19.84886 E	2021	Észak-Magyarországi Régió	G2	SN9
Sárkeresztúr	47.00134 N, 18.54796 E	2021	Közép-Dunántúli Régió	G1	SL10
Sárkeresztúr	47.00134 N, 18.54796 E	2021	Közép-Dunántúli Régió	G2	SN10
Törökszentmiklós	47.17781 N, 20.40930 E	2021	Észak-Alföldi Régió	G1	SL11
Törökszentmiklós	47.17781 N, 20.40930 E	2021	Észak-Alföldi Régió	G2	SN11
Tüskevár	47.11805 N, 17.30990 E	2021	Nyugat-Dunántúli Régió	G1	SL12
Tüskevár	47.11805 N, 17.30990 E	2021	Nyugat-Dunántúli Régió	G2	SN12
Apátfalva	46.17847 N, 20.57826 E	2022	Dél-Alföldi Régió	G1	S1
Apátfalva	46.17847 N, 20.57826 E	2022	Dél-Alföldi Régió	G2	SL13



Apátfalva	46.17847 N, 20.57826 E	2022	Dél-Alföldi Régió	G3	S3
Apátfalva	46.17847 N, 20.57826 E	2022	Dél-Alföldi Régió	G4	S4
Apátfalva	46.17847 N, 20.57826 E	2022	Dél-Alföldi Régió	G5	SN13
Apátfalva	46.17847 N, 20.57826 E	2022	Dél-Alföldi Régió	G6	S6

A minták kisparcellás kísérletből származtak, kémiai növényvédelmi kezelést nem kaptak. A minták nedvességtartalma 14-16% között volt. A mintákat betakarítás előtt 1-2 héttel gyűjtöttük be, mintavételezési parcellánként 5 különböző pontról, a mintagyűjtési pontok között minimum 3 méter volt (2021: 24 x 5 minta; 2022: 6 x 5 minta), majd a szemterméseket kézzel hántoltuk. A mintákat papírdobozban tároltuk 5 °C-on felhasználásig.

#### 4.1.2. *A szemtermések belső fertőzöttségének megállapítása laboratóriumi körülmények között*

A begyűjtött szemtermések felületi fertőtlenítését 5 percen keresztül kereskedelmi forgalomban kapható 10 %-os hígítású hipó (NaOCl) oldattal végeztük, majd a szemterméseket desztillált vízzel (dH<sub>2</sub>O) lemostuk és laminális fülkében szárítottuk. A szemterméseket a felületi fertőtlenítés után Nash & Snyder-féle szelektív táptalajra helyeztük. Ez a speciális táptalaj alkalmas *Fusarium* fajok izolálására és fenntartására, a pentaklór-nitrobenzol (PCNB) fungicid képes megakadályozni más mikroorganizmusok növekedését a szemekből, azonban egyes leírások alapján nem csak *Fusarium* fajok képesek növekedni ezen a táptalajon, hanem más mikotoxin-termelő gombafajok (Leslie és Summerell 2006). A táptalaj hozzávalóinak laboratóriumi mérlegen történő kimérése után a táptalajt túlnyomás alatt autoklávban sterilizáltuk (121 °C, 20 perc). Amikor kézmelegre hűlt a táptalaj hozzáadtuk a szükséges antibiotikumokat, majd steril fülke alatt steril Petri-csészékbe öntöttük a táptalajt.

A Nash & Snyder-féle táptalaj (PPA) összetétele 1 liter desztillált vízhez (Leslie és Summerell 2006):

- 15 g pepton
- 20g agar (nem steril)
- 1 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- 0,5 g MgSO<sub>4</sub>
- 50 ppm PCNB
- 100 ppm kloramfenikol

A szemterméseket 10 ismétlésben és 10 biológiai ismétléssel vizsgáltuk. A megszilárdult táptalajra helyeztük a felületileg fertőtlenített szemterméseket steril csipesz segítségével oltófülkében. A szemterméseket 25 °C-on termosztátban inkubáltuk és 7. nap után vizsgáltuk a kinőtt gombatelepek számát (2. ábra).



2. ábra: Nash & Snyder-féle táptalajra helyezett szemes cirok szemtermésekből kinövekedett hifák és micéliumok a táptalajra helyezést követő 7. napon (Fotó: Szabó 2022)

Ahhoz, hogy a kinőtt gombatelepeket nemzetség szinten azonosítani tudjuk a megjelenő gombatelepeket kloramfenikol tartalmú burgonya-dextróz táptalajra (Potato Dextrose Agar (PDA)) oltottuk át, melynek összetétele 1 liter desztillált vízhez:

- 39 g PDA por (Dextróz 20g/l, burgonyakivonat 4g/l, agar 15 g/l)
- 100 ppm kloramfenikol

A kinőtt gombatelepeket PDA táptalajra oltottuk, majd 25 °C-on sötét termosztátban inkubáltuk 7 napig, hogy a gombák sporulációját indukáljuk. A nemzetség szinten történő azonosításhoz a gombákat makro- és mikromorfológiailag vizsgáltuk. A nemzetségek elkülönítése makromorfológiailag jellegzetes telepmorfológia (micéliumok) és pigmentáltság alapján történt. A mikromorfológiai vizsgálatok során a kinőtt micéliumszövedékből mikroszkópi preparátumokat készítettünk, amelyeket Olympus BX50-es típusú fénymikroszkóppal vizsgáltunk.

#### 4.2. Az izolált *Fusarium*-, *Aspergillus*- és *Penicillium* fajok azonosítása

##### 4.2.1. *Fusarium* izolátumok monospórák tenyészteteli

A *Fusarium* nemzetség jellegzetes kolóniájával és mikroszkopikus morfológiai jellemzőivel rendelkező gombakultúrákat ezután új PDA táptalajra vittük át monospórák tisztítás céljából. A *Fusarium* fajok faj szintű azonosításához elengedhetetlen a monospórák tenyészteteli (3. ábra) elkészítése, mivel egy-egy átoltott gombában esetlegesen több *Fusarium* faj konídiumai is fellelhetőek (Geiser et al. 2004). A monospórák tenyészteteket szuszpenziós hígításokkal, majd

izolátumonként egy kicsírázott spórával sztereomikroszkóp alatt történő izolálással állítottuk elő. 90 mm átmérőjű petricsészébe pipetta segítségével 10 ml PDA táptalajt mértünk ki. Az eszközöket autoklávban 121 °C-on sterilizáltuk 20 percen keresztül. A monospóras kultúrák készítése során  $10^{-6}$ -on hígítási sort készítettünk, amelyből 100  $\mu$ l-t a steril megszilárdult PDA táptalajra pipettáztunk, majd steril szélesztőpálca segítségével a spórasuszpenziót szélesztettük a táptalajra. A tenyészeteket 25 °C-on sötétben inkubáltuk, majd 12-15 óra elteltével 10x vagy 20x-os nagyítású objektív alá helyeztük a petricsészéket és egy darab konídiumot megjelöltünk a petricsészén. Ezután, steril boksztal alatt steril szikével körbevágtuk a megjelölt spórát és steril PDA-ra helyeztük, amelyet 25 °C-os sötét termosztátba helyeztünk és másnap megvizsgáltuk, hogy valóban egy darab spóra szaporodott csak fel. Azon tenyészeteket kiválasztottuk, ahol egy spóra felszaporodása történt csak a monospóras tenyészetek elkészítésekor.



3. ábra: *Fusarium monospóras tenyészetek 72 óra elteltével (A, B) (Fotó: Szabó 2022)*

#### 4.2.2. Az izolátumok DNS kivonása

A DNS kivonás előtt a nemzetség szinten azonosított gombákat PDA táptalajra oltottuk, majd a tenyészeteket 25 °C-on sötétben inkubáltuk, hogy felszaporodjanak a táptalajon és megfelelő mennyiségű micélium álljon rendelkezésünkre a DNS kivonások elvégzéséhez. A DNS kivonásokat 7-14 napos tenyészetekből végeztük. A molekuláris genetikai vizsgálatokat a MATE Integrált Növényvédelmi Tanszékének Növénykórtani Laboratóriumában és a Bordeaux-i National Research Institute for Agriculture, Food and the Environment (INRAE) Mycology and Food Safety (MycSA) laboratóriumában végeztem.

#### 4.2.2.1. DNS kivonások DNS Miniprep Kit-tel

A friss gombatelepek micéliumaiból, figyelve arra, hogy a táptalaj ne szennyezze a folyamatot, ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep kit segítségével izoláltuk a DNS-t, követve a gyártó utasításait. A DNS kit protokollja az M2-es mellékletben érhető el (Melléklet - M2).

#### 4.2.2.2. DNS kivonások fenol-kloroform módszerrel

A fenol-kloroform módszer során 20 mg micéliumot őröltünk és homogenizáltunk (Precellys Evolution & Cryolis) üveggyöngyökkel és 600 µl DNS-extrakciós lízis bufferrel (100 mM Tris pH8, 150 mM NaCl, 10 mM EDTA, 2% n-lauroilsarcosine só (w/v)) összetörtük a micéliumokat, hogy a sejtfal felbomoljon. 6 µl proteináz K-t adtunk az elegyhez. Homogenizálás után a keveréket 55 °C-on 1 órán át inkubáltuk, majd 10 percig 13 200 rpm sebességgel centrifugáltuk. Az elegyhez 500 µl fenol:kloroform (v/v 1:1, pH 8,0) összetételű oldatot adtunk hozzá, és az elegyet 10 percig 13 200 rpm sebességgel centrifugáltuk. A felső vizes fázist átvittük egy új Eppendorf csőbe, és 4 µl RNáz A-t (10 mg/µl) adtunk hozzá, és 37 °C-on 30 percig inkubáltuk. Ezután ismét 500 µl fenol:kloroform elegyet adtunk hozzá, majd 10 percig 13 200 rpm sebességgel centrifugáltuk, majd az újonnan kialakult felső vizes fázist egy új 2 ml-es Eppendorf-csőbe pipettáztuk át. 3M nátrium-acetátot és 2,5-szeres térfogat jéghideg etanolt (98%-os koncentráció) adtunk az átvitt vizes fázishoz. A mintát 30-45 percig jégen tároltuk, majd 30 percig centrifugáltuk 13 200 rpm sebességgel 4 °C-on. Ezután az etanolt kiöntöttük az Eppendorf csőből, és a kicsapódott DNS-t 1 ml jeges 80%-os etanollal mostuk, és 15 percig 13 200 rpm sebességgel centrifugáltuk. Az etanolt kiöntöttük az Eppendorf csőből, és a kicsapódott DNS-t megszáritottuk. A DNS-t feloldottuk 30 µl nukleázmentes vízben, és 4 °C-on tároltuk. A DNS koncentrációját NanoDrop spektrofotométerrel (Thermo Fischer Scientific, MA, USA) ellenőriztük, majd a PCR termékek előállításához 10 ng/µl-re hígítottuk.

#### 4.2.3. Molekuláris genetikai vizsgálatok

##### 4.2.3.1. A kísérletbe vont indítószekvenciák a faj szintű azonosításhoz

A molekuláris genetikai azonosítások során 3 szekvencia párral dolgoztunk. A transzlációs elongációs faktorra (*TEF1-α*) speciális primert a *Fusarium* nemzetségbe tartozó gombák esetén alkalmaztuk. A kalmodulin génre (*CaM*) speciális indítószekvencia párokat (*cmd5/cmd6* és *CL1/CL2A*) az *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetségbe tartozó gombák esetén alkalmaztuk (5. táblázat). A primereket a szakirodalmi hivatkozások alapján választottuk ki.

5. táblázat: A kísérletbe vont indítószekvenciák jellemzői

Primer neve	Primer szekvencia	Nemzetség	PCR termék várható mérete (bázispár)	Irodalmi hivatkozás
EF1	5'-ATGGGTAAGGA(A/G)GACAAGAC-3'	<i>Fusarium</i> spp.	~700 bp	O'Donnell et al. 1998b
EF2	5'-GGA(G/A)GTACCAGT(G/C)ATCATGTT-3'	<i>Fusarium</i> spp.	~700 bp	O'Donnell et al. 1998b
CL1	5'-GA(GA)T(AT)CAAGGAGGCCTTCTC-3'	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp.	688 bp	O'Donnell et al. 2000
CL2A	5'-TTTTTGCATCATGAGTTGGAC-3'	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp.	688 bp	O'Donnell et al. 2000
cmd5	5'-CCGAGTACAAGGAGGCCTTC-3'	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp.	580 bp	Hong et al. 2006
cmd6	5'-CCGATAGAGGTCATAACGTGG-3'	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp.	580 bp	Hong et al. 2006

#### 4.2.3.2. Polimeráz láncreakciók

A *Fusarium* nemzetségbe tartozó gombák esetében standard polimeráz láncreakciót (PCR) alkalmaztunk. Az amplifikációhoz Pro Flex<sup>TM</sup> thermocyclert (Applied Biosystems<sup>TM</sup> Singapore) használtuk a következő feltételek mellett: 1 ciklus kezdeti denaturálás 95 °C-on 2 percig, 35 denaturálási ciklus 95 °C-on 30 másodpercig, anelláció 53 °C-on 1 percig lánchosszabbítás 72 °C-on 90 másodpercig, és 1 ciklus végső lánchosszabbítás 72 °C-on 5 percig (Melléklet – M5). A TEF PCR-terméket az Azenta Life Sciences (GENEWIZ Germany GmbH, Lipcse) és a Macrogen Europe (Macrogen Europe BV, Amsterdam) használta templátként DNS-szekvenáláshoz. A Sanger-féle láncterminációs módszer előtt a PCR termékek tisztítása is megtörtént, amelyet a szekvenáló partner végzett el. A szekvenciákat az NCBI (US National Center for Biotechnology Information) adatbázis segítségével hasonlítottuk össze, amely a <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> címen érhető el. Továbbá a szekvenciák az NCBI Génbanki adatbázisába is feltöltésre és validálásra kerültek a génbanki számok a mellékletben érhetőek el (Melléklet – M3).

Az *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetségbe tartozó gombák esetében standard polimeráz láncreakciót (PCR) alkalmaztunk a CL1/CL2A és cmd5/cmd6 kalmodulin génre specifikus primerekkel. Az amplifikációhoz a CL1/CL2A primer párok esetében Pro Flex<sup>TM</sup> thermocyclert (Applied Biosystems<sup>TM</sup> Singapore) használtuk a következő feltételek mellett: 1 ciklus kezdeti

denaturálás 94 °C-on 5 percig, 30 denaturálási ciklus 94 °C-on 30 másodpercig, anelláció 55 °C-on 1 percig, lánchosszabbítás 72 °C-on 2 percig, és 1 ciklus végső meghosszabbítás 72 °C-on 5 percig. A cmd5/cmd6 primer párok esetében az amplifikációt a következő feltételek mellett végeztük el: 1 ciklus kezdeti denaturálás 95 °C-on 5 percig, 35 denaturálási ciklus 95 °C-on 1 percig, anelláció 55 °C-on 30 másodpercig, lánchosszabbítás 72 °C-on 40 másodpercig, és 1 ciklus végső meghosszabbítás 72 °C-on 5 percig. A *CaM* PCR-terméket a Macrogen Europe (Macrogen Europe BV, Amsterdam) használta templátként DNS-szekvenáláshoz. A Sanger-dedoxy szekvenálás előtt a PCR termékek tisztítása is megtörtént. A szekvenciákat az NCBI (US National Center for Biotechnology Information) adatbázis segítségével hasonlítottuk össze, amely a <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> címen érhető el. Továbbá a szekvenciák az NCBI Génbanki adatbázisába is feltöltésre és validálásra kerültek a génbanki számok a mellékletben található (Melléklet – M3).

A kísérlet során az utolsó két PCR terméket tartalmazó zseb a pozitív és negatív kontrol volt. A pozitív kontrol esetében a MATE, NVI, Integrált Növényvédelmi Tanszék gyűjteményéből származó DNS mintákat alkalmaztuk. A negatív kontrol esetében a PCR termék nem tartalmazott DNS-t, helyette Mili-Q víz került a PCR termékekbe. A felszaporított termékeket 1%-os etidium bromidot (EtBr) tartalmazó agaróz gélben választottuk szét. A gélen megjelent termékeket Image Lab (BioRad) programmal értékeltük, a marker (1kb Plus DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific) alapján ellenőriztük a képződött termékek specifikusságát (Melléklet – M4 – 37. ábra).

#### 4.2.3.3. *Az azonosított Fusarium fajok szekvencia igazításai és filogenetikai analízise*

Az újonnan generált TEF1- $\alpha$  szekvenciákat a Nucleotid BLAST (NCBI) keresőmotor segítségével ellenőriztük (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Az összes referenciaszekvenciát az NCBI GenBankjából töltöttük le (Melléklet – M3). A többszörös szekvenciamátrixokat a MEGA 11.0 automatikusan igazította. Az egyes génillesztéseket a maximális valószínűség szerint külön elemeztük a filogenikus fa topológia kongruenciájának ellenőrzésére az 100 bootstrap ismétléssel beállított alapértelmezett beállítás használatával.

#### 4.2.4. *Az azonosított Fusarium-, Aspergillus és Penicillium fajok mikroszkópi vizsgálata*

Az azonosított 1-1 gombafaj kinőtt micéliumszövedékből mikroszkópi preparátumokat készítettünk, amelyeket Olympus BX50-es típusú fénymikroszkóppal vizsgáltunk és fotókat készítettünk az Olympus E420 típusú tükörreflexes gép segítségével.

### 4.3. Az egyes *Fusarium* izolátumok mikotoxin-termelő képességének vizsgálata

A kiválasztott *Fusarium* izolátumok mikotoxin-termelő képességének vizsgálatát a Bordeaux-i National Research Institute for Agriculture, Food and the Environment (INRAE) Mycology and Food Safety (MycSA) laboratóriumában végeztem 2022-ben 25 izolátum esetében.

#### 4.3.1. A tenyészetek előkészítése

A *Fusarium* izolátumokat karboxi-metil-cellulózban (CMC) tenyésztettük, hogy spóraszuszpenziót állítsunk elő. CMC-ben 25 °C-on és 180 rpm sebességgel Multitron inkubátor rázógépből (INFORS AG, Bottmingen, Svájc) 3-4 napig inkubáltuk, majd a spórákat 40 µm-es membránszűrővel (Sefar Nitex, Svájc) választottuk el, ezután Malassez-kamrába helyeztük őket, és steril vízzel hígítottuk, hogy elérjük a 10<sup>4</sup> spóra/ml végső koncentrációt.

#### 4.3.2. A folyékony táptalajon előállított tenyészetek

*F. graminearum*, *F. sporotrichioides* és a *F. cf. incarnatum* tenyészeteket MS (Mycotoxin Synthetic Medium) folyékony tápközegben (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 g/l; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,6 g/l; MgSO<sub>4</sub>, 0,017 g/l; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 g/l; glükóz, 20 g/l; biotin, 0,1 mg/l és 0,1 ml/l Vogel ásványisó oldat (Vogel 1956)) (Boutigny et al. 2009) szaporítottuk fel 5 cm átmérőjű Petri-csészékben, amelyeket 1 x 10<sup>4</sup> spóra/ml mennyiségben oltottunk be. A kísérletet 3 ismétlésben végeztük. A Petri-csészéket 25 °C-on, sötétben inkubáltuk 14 napig.

A *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. cf. incarnatum* és *F. subglutinans* izolátumokat GAYEP (glükóz-amilopektin-élesztőkivonat-pepton) folyékony tápközegben állítottuk elő 25 ml-es Erlenmeyer-lombikban (4. ábra). A táptalaj elkészítéséhez 900 ml oldatot 40 g/l glükózzal és 10 g/l amilopektinnel (105 °C-on 30 percig sterilizálva) és 100 ml 1 g/l neopeptont és 1 g/l élesztőkivonatot tartalmazó oldatot összekeverünk (121 °C-on 20 percig sterilizálva). Mindegyik törzs esetében a 10 ml táptalajt mértünk a lombikokba, amelyeket 10<sup>4</sup> spóra/ml koncentrációval oltottunk be. A kísérletet 3 ismétlésben végeztük izolátumonként. A lombikokat rázatás közben 25 °C-on, sötétben 14 napig inkubáltuk.



4. ábra: *F. proliferatum* GAYEP táptalajban, 14 napos tenyészet (Fotó: Szabó 2022)

Az inkubálást követően a MS és GAYEP tenyészeteket 3000 g-vel centrifugáltuk 15 percig. A felülúszókat -20 °C-on tároltuk a B típusú trichotecének (TCTB), A típusú trichotecének (TCTA), HT-2, T-2 toxinok és fumonizinek mennyiségi meghatározása előtt. A gomba biomasszáját a micéliumpellet lemérésével mértük 48 óras 80 °C-os szárítás után. A tenyészet inkubálását 3 ismétléssel végeztük el.

#### 4.3.3. *Fusarium graminearum és F. cf. incarnatum izolátumok TCTB analízise*

A szerves fázis 5 ml-ét 45 °C-on nitrogénáram alatt szárazra pároljuk. A szárított mintákat 200 µl metanol/víz (1/1, v/v) elegyben oldottuk, és elemzés előtt 0,2 µm-es membránszűrőn szűrtük. A TCTB mennyiségét LC-DAD-vel határoztuk meg egy 3023 Agilent Technologies 1100 sorozatú folyadékkromatográf segítségével, (Montibus et al. 2021). Az elválasztást Kinetex XB-C18 100 Å oszlopon (4,6 × 150 mm, 2,6 µm) (Phenomenex, Franciaország) 45 °C-on tartottuk. A mobil fázis vízből (A eluens) és acetonitrilből (B eluens) állt. Az áramlást 0,7 ml/perc<sup>-1</sup> értéken tartottuk. Az mintavétel térfogatát 5 µl-re állítottuk be. A B típusú trichotecéneket gradiens elúcióval választottuk el a következőképpen: 7-30% B 6 perc alatt, 30-90% B 2 perc alatt, 90% B 2 perc, 90-7% B 1 perc, 7% B 6 perc. A csúcsterületeket 230 nm-en mértük. A számszerűsítést külső kalibrációval végeztük standard oldatokkal. A termelt mikotoxinok mennyiségét µg-ban fejeztük ki a gomba 1 g száraz biomasszájára tekintve.

#### 4.3.4. *Fusarium sporotrichioides izolátumok TCTA analízise*

A táptalajt 50%-os metanollal hígítottuk, vortex segítségével összeráztuk, és egy 0,45 µm-es, 15 mm átmérőjű szűrőfecskeendőn átszűrtük a HPLC-MS/MS analízis előtt. TA vanquish UHPLC rendszert használtunk a fumonizinek mérésére. A TCTA toxinok elválasztására fordított fázisú C18 Thermo Accucore aQ C18 oszlopot alkalmaztuk (2,1 x 100 mm, 2,6 µm), amelyet 40 °C-on tartottunk. A mozgófázis víz/metanol (98/2, v/v) (A eluens) és metanol/víz (98/2, v/v) (B eluens) 10 mM ammónium-acetátot és 0,1 % ecetsavat tartalmazott. A gradienselúció a következő volt: 2% B 0,5 percig, 2-98% B 4,5 perc, 98% B 4,7 perc, 98-2% 0,1 perc és 2% B 2,2 perc. Az áramlást 0,4 ml/min<sup>-1</sup> értéken tartottuk. A mintavételezés térfogata 2 µl volt.

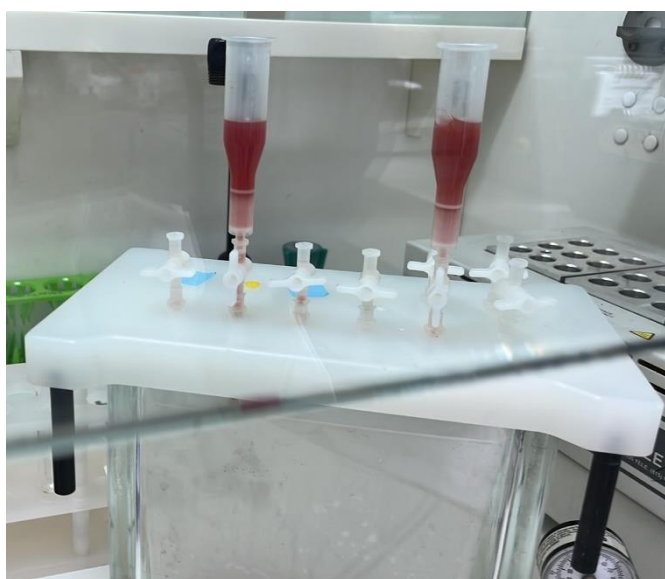
A mikotoxinokat Q Exactive Focus tömegspektrométerhez társított kvadrupól tömegszűrővel detektáltuk. Elektrospray ionizációt használtunk pozitív módban teljes detektálással és adatfüggő MS<sup>2</sup>-vel. A tömegspektrométer pozitív ESI üzemmódban működött, 70k felbontóteljesítményű teljes letapogatással a 80-1100 m/z tartományban. Az adatfüggő MS<sup>2</sup> (ddMS<sup>2</sup>) esetében a felbontóképesség 17 500 m/z 200 3,0 m/z leválasztási ablakkal és 2,0 másodperces dinamikus kizárással. Ionfragmentációt végeztünk a HCD cellában, és a normalizált ütközési energiát 30%-ra állítottuk. Az Orbitrap analizátort az ESI+ hangkeveréssel kalibráltuk. Nitrogént használtunk burkolatként és segédgázként. A fő MS-paramétereket optimalizáltuk és



végül a következőképpen állítottuk be: köpenygáz áramlási sebessége, 50 a.u.; segédgáz áramlási sebessége, 13 a.u.; seprőgáz áramlási sebessége, 0 a.u.; permetezési feszültség, 3,5 kV; kapilláris hőmérséklet, 320 °C; S objektív RF szint 50%; kiegészítő gázfűtő hőmérséklet, 350°C. Külső kalibrálást végeztünk a T-2 és HT-2, DAS és MAS toxinok mennyiségi meghatározására (25, 50, 100, 250, 500 és 1000 µg/l). Az eredményeket µg/g száraz gomba biomasszára konvertáltuk.

#### 4.3.5. *Fusarium proliferatum*, *F. verticillioides*, *F. cf. incarnatum* és *F. subglutinans* izolátumok fumonizin termelésének vizsgálata

A tenyészetek toxinkivonása esetén az 5 ml tenyészet szűrletének pH-ját 6,5-re állítottuk be, és a fumonizineket Bond Elut Strong Anion Exchange (SAX) kazettákkal (Varian, Palo Alto, CA) tisztítottuk (5. ábra). A fumonizineket 10 ml metanol/ecetsav (99/1, v/v) eleggyel eluáltuk, és nitrogénáramban szárazra pároltuk. A szárított mintákat 200 µl metanolban oldottuk. Ezután 10 µl mintát 90 µl oftáldialdehid reagenssel derivatizáltunk, és ebből az oldatból 5 µl-t injektáltunk az UPLC rendszerbe a derivatizálást követő 1 percen belül. A fumonizin koncentrációját nagy teljesítményű folyadékkromatográfus Shimadzu Prominence UPLC lánc segítségével határoztuk meg, amely két LC-30 AD szivattyúval, egy DGU-20A5R gáztalanítóval, egy SIL-30 AC automatikus mintavevővel és egy RF-20A XC fluoreszcencia detektorral van felszerelve (Shimadzu Scientific Instruments, Noisiel, Franciaország). 45 °C-on tartott Kinetex XB-C18 100 Å oszloppal (4,6 × 150 mm, 2,6 µm) (Phenomenex, Le Pecq, Franciaország) és fluoreszcencia detektorral (gerjesztés λ, 335 nm, az emisszió λ-ja, 440 nm). A mozgófázis metanol/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (77/23) volt, pH-ját o-foszforsavval 3,35-re állítottuk be. Izokratikus elúciót alkalmaztunk 0,6 ml/perc áramlási sebességgel. A mintavételezés térfogata 5 µl volt. A mennyiségi meghatározást külső kalibrációval végeztük FB1, FB2 és FB3 standard oldatokkal 1-100 µg/ml között.



5. ábra: *A F. proliferatum* fumonizin toxin kivonása SAX kazettákkal (Fotó: Szabó 2022)

Az FB1, FB2 és FB3 összegét használtuk a fumonizin mennyiségének meghatározására, és az eredményeket µg/g száraz biomasszára konvertáltuk.

#### 4.4. *Aspergillus* izolátumok mikotoxin-termelésben szerepet játszó génjeinek azonosítása

##### 4.4.1. PCR vizsgálatok mikotoxin-termelésre specifikus gének primerjeivel

A PCR vizsgálatok során 7, a mikotoxin termeléssel összefüggésbe hozható gén jelenlétét vizsgáltuk standard PCR eljárással Degola és mtsai. (2007) és Gallo és mtsai. (2012) leírása alapján. A kísérlet során 21 db izolátumot vizsgáltunk, melyből 19 db *A. flavus* és 2 db *A. oryzae* izolátum volt. Az *aflR*, *aflS*, *aflD*, *aflM*, *aflP*, *aflO*, *aflQ* géneket, melyek a gomba aflatoxin-termelésében szerepet játsznak, a 6. táblázatban található indítószekvenciák segítségével vizsgáltuk. Az *aflD*, *aflO*, *aflM*, *aflP* és *aflQ* gének strukturális gének, amelyek részt vesznek az aflatoxin bioszintézisében és a bioszintézis útvonal enzimeit kódolják, míg az *aflR* és *aflS* gén szabályozó gének a strukturális gének expressziójának szabályozásában vesznek részt.

6. táblázat: A kísérletben használt aflatoxin-termelőképeség kimutatására alkalmazott indítószekvenciák tulajdonságai

Primer neve	Primer szekvencia	Gén specifikusság	PCR termék várható mérete (bázis pár)	Irodalmi hivatkozás
<b>AfIR</b>	5' -AAGCTCCGGGATAGCTGTA-3'	<i>aflR</i>	1079 bp	Gallo et al. 2012
	5' -AGGCCACTAAACCCGAGTA-3'			
<b>AfIS</b>	5' -TGAATCCGTACCCTTTGAGG-3'	<i>aflS (aflJ)</i>	684 bp	Degola et al. 2007
	5' -GGAATGGGATGGAGATGAGA-3'			
<b>AfID</b>	5' -CACTTAGCCATCACGGTCA-3'	<i>aflD (nor-1)</i>	852 bp	Degola et al. 2007
	5' -GAGTTGAGATCCATCCGTG-3'			
<b>AfIM</b>	5' -AAGTTAATGGCGGAGACG-3'	<i>aflM (ver-1)</i>	470 bp	Degola et al. 2007
	5' -TCTACCTGCTCATCGGTGA-3'			
<b>AfIO</b>	5' -TCCAGAACAGACGATGTGG-3'	<i>aflO (omtB)</i>	790 bp	Degola et al. 2007
	5' -CGTTGGCTAGAGTTTGAGG-3'			
<b>AfIP</b>	5' -AGCCCCGAAGACCATAAAC-3'	<i>aflP (omtA)</i>	870 bp	Degola et al. 2007
	5' -CCGAATGTCATGCTCCATC-3'			
<b>AfIQ</b>	5' -TCGTCCTCCATCCTCTTG-3'	<i>aflQ (ordA)</i>	757 bp	Degola et al. 2007
	5' -ATGTGAGTAGCATCGGCATTC-3'			

Az *A. flavus* és *A. oryzae* esetében az aflatoxin bioszintézisével összefüggésbe hozható géneket célzó vizsgálat estében a PCR a következőképpen zajlott (Gallo et al. 2012): 1 ciklus

kezdeti denaturáció 95 °C 10 percig, majd 30 denaturálási ciklus következett 95 °C-on 50 másodpercig, lágyítás 58 °C-on 50 másodpercig végül lánchosszabbítás 72 °C-on 2 percig.

A felszaporított termékeket 1%-os etídium bromidot (EtBr) tartalmazó agaróz gélben választottuk szét. A gélen megjelent termékeket Image Lab (BioRad) programmal értékeltük, a marker (1kb Plus DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific) alapján ellenőriztük a képződött termékek specifikusságát.

#### **4.5. A szemes cirok tokoferol és antioxidáns összetételének vizsgálatai**

A szemes cirok tokoferol és antioxidáns összetételének vizsgálatait a Bordeaux-i National Research Institute for Agriculture, Food and the Environment (INRAE) Mycology and Food Safety (MycSA) laboratóriumában végeztem. A kísérletet a 2021-es évben gyűjtött 24 szemes cirok mintán végeztük el 3 ismétlésben.

##### *4.5.1. Tokoferol összetétel vizsgálatok*

A tokokromanol összetételre vonatkozó vizsgálatokat 24 db a G1 és G2-es genotípusú szemes cirok minta esetében végeztük el a Lux és mtsai. (2020) által leírtak alapján. A tokoferolokat 0,1 g szárított cirok szemtermésből extraháltuk 1,8 ml víz, 1,2 ml 50%-os KOH-oldat, 4 ml etanol és 1% aszkorbinsav hozzáadásával. Ezt követően 30 percig 70 °C-os vízfürdőt használtunk a potenciálisan zavaró olajok elszappanosítására (6. ábra). Ezután 50 µl etanolt és butil-hidroxi-toluolt (BHT) (1 mg/ml), 2 ml vizet, 1,2 ml ecetsavat és 4 ml hexánt adtunk hozzá, majd vortexeltük és centrifugáltuk 3000 g fordulaton 3 percig 4 °C-on. A tokoferolokat ezután háromszor extraháltuk hexános rétegekkel (4 ml), minden extrakció után 3 percig centrifugáltuk 3000 g fordulaton. A szerves fázist nitrogénáramban szárazra pároljuk. A szárított mintákat 300 µl metanolban oldottuk, 0,2 µm-es szűrőkkel (acrodisc 13 mm minispice 0,2 µm PTFE-vel, Pall Corporation, Saint-Germain-en-Laye, Franciaország) szűrtük, és sötét fiolákba helyeztük, majd a minták elemzése következett.



6. ábra: Szemes cirok minták 70 °C hőfürdőben a tokokromanolok kivonásához (Fotó: Szabó 2022)

A tokokromanolok mennyiségi meghatározása fluoreszcenciadetektorhoz (LC/FLD) kapcsolt folyadékkromatográfiával történt, automatikus mintavevő rendszerrel felszerelt Agilent Technologies 1100 sorozatú rendszerrel, Agilent FLD detektorral és a ChemStation kromatográfia menedzser szoftverrel, Rev. A.10.02 (Agilent, Les Ulis, Franciaország). A vegyületek elválasztását Kinetex 2,6  $\mu\text{m}$  FS 100 Å LC oszlopon (150 mm x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) (Phenomenex, Le Pecq, Franciaország) 45 °C-on tartottuk. A mozgó fázis vízből (A eulens) és metanolból (B eulens) állt és a gradienselúció a következő volt: 85% B 1 perc, 85% - 100% B 14 perc; 100% B 5 percig; 100%-85% B 1 perc alatt; 85% B 7 percig. Az áramlási sebességet 1,2 ml/perc-re állítottuk be. 5  $\mu\text{l}$  injektáló térfogatot használtunk. A fluoreszcencia detektort 290 nm gerjesztésre és 330 nm emisszióra állítottuk be. Az  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ -,  $\gamma$ -tokoferol és tokotrienol standardjait MeOH-ban oldottuk fel 1-50  $\text{mg/L}^{-1}$ -ig. Ezeket a standardokat külső kalibrációs görbéként használtuk. A tokoferolok koncentrációját és az eredményeket  $\mu\text{g}/\text{mg}$  száraz biomassa értékre konvertáltuk.

#### 4.5.2. Karotinoid összetétel vizsgálatok

A karotinoid összetételre vonatkozó vizsgálatokat 24 db a G1 és G2-es genotípusú szemes cirok minta esetében végeztük el a Savignac és mtsai. (2023) által leírtak alapján. A karotinoidokat 600 mg szárított és őrölt cirok szemtermésből extraháltuk 3 ml metanol hozzáadásával, amely 0,1% butil-hidroxi-toluolt (BHT, w/v) tartalmazott, majd 20 másodpercig vortexeltük és 10 percig rázattuk 50 fordulat/perc sebességgel. Ezután 1,8 ml 12%-os (w/v) KOH-t adtunk a felülúszóhoz, hogy elszappanosítsuk a potenciálisan zavaró olajokat. A mintákat 30 másodpercig vortexeltük, és 30 percig kevertük. Az elszappanosítást követően belső standardot, nevezetesen  $\beta$ -apo-8'-karotint (50  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) adtunk hozzá. A karotinoidokat ezután háromszor extraháltuk hexános rétegekkel (1,8 ml), minden extrakció után 10 percig centrifugáltuk 3000 g fordulaton. A szerves fázist ezután nitrogénáramban szárazra pároltuk. A szárított mintákat 200  $\mu\text{l}$  metanolban rekonstituáltuk, 0,2  $\mu\text{m}$ -es szűrőkkel (acrodisc 13 mm minispice 0,2  $\mu\text{m}$  PTFE-vel, Pall

Corporation, Saint-Germain-en-Laye, Franciaország) szűrtük, és sötét fiolákba helyeztük és elemeztük.

A karotinoidokat folyadékkromatográfiával határoztuk meg fotodiódasoros detektorhoz (LC-DAD) kapcsolva, egy Agilent Technologies 1100 sorozatú rendszerrel, amely automatikus mintavevő rendszerrel, egy Agilent DAD detektorral és a ChemStation kromatográfia-kezelő szoftverrel, Rev. A.10.02 (Agilent, Les Ulis, Franciaország). A vegyületek elválasztását triakontil-szililezett szilikagél Develosil RPAQUEOUS oszlopon (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) (Phenomenex, Le Pecq, Franciaország) 30 °C-on tartottuk. A mozgó fázis acetonitril/kloroform (80:20, v/v) elegyből áll. Izokratikus elúciót végeztünk 1 ml/perc<sup>-1</sup> áramlási sebességgel 40 percig. Az injekció mintavételi térfogata 5 µl volt. Az ultraibolya-látható (UV-látható) spektrumot 190-500 nm között vettük fel, a csúcsterületeket 450 nm-en mértük. A mennyiségi meghatározást külső kalibrációval végeztük, kereskedelmi forgalomban kapható tiszta porokból készített standard oldatokkal. A lutein, a zeaxantin és a β-karotin standardjait metanol/acetonitril/diklór-metán (25:25:50, v/v/v) elegyben oldottuk fel 3,25-50 mg/l között. Ezeket a standardokat külső kalibrációs görbéként használtuk. A karotinoidok koncentrációját és az eredményeket µg/mg száraz biomassza értékre konvertáltuk.

#### **4.6. Egyes lipofil antioxidánsok hatásai a kiválasztott *Fusarium proliferatum* izolátumok fumonizin bioszintézisére**

Az egyes lipofil antioxidánsok hatásainak vizsgálatait a kiválasztott *F. proliferatum* izolátumok fumonizin bioszintézisére a Bordeaux-i National Research Institute for Agriculture, Food and the Environment (INRAE) Mycology and Food Safety (MycSA) laboratóriumában végeztem. A vizsgálatba vont izolátumok a INRAE MycSA gyűjteményéből, továbbá szemes cirok szemtermésről általunk izolált *F. proliferatum* izolátum volt.

##### *4.6.1. A tenyészetek előkészítése*

A kiválasztott INVT\_018 és INRA 58-as izolátum esetében a GAYEP (glükóz-amilopektin-élesztőkivonat-pepton) folyékony tápközegben hoztunk létre és szaporítottuk fel a kiválasztott gombákat 25 ml-es Erlenmeyer-lombikokban három ismétlésben (7. ábra). A táptalaj elkészítéséhez 900 ml oldatot 40 g/l glükózzal és 10 g/l amilopektinnel (105 °C-on 30 percig sterilizálva) és 100 ml 1 g/l neopeptont és 1 g/l élesztőkivonatot tartalmazó oldatot összekeverünk (121 °C-on 20 percig sterilizálva). Mindegyik izolátum esetében a 10 ml táptalajt mértünk a

lombikokba, amelyeket 104 spóra/ml koncentrációval oltottunk be. A lombikokat rázatás közben 180 rpm-en, 25 °C-on, sötétben 14 napig inkubáltuk.



7. ábra: Az INVT\_018-as törzs GAYEP táptalajban, tenyészetek 3 nap után (Fotó: Szabó 2022)

A fumonizint termelő *F. proliferatum* INVT\_018 és INRA 58 törzseket (INRAE gyűjtemény) használtuk a lipofil antioxidánsok fumonizin-termelésre gyakorolt hatásának felmérésére. A táptalajt (GAYEP) 0,1 mM luteinnel, zeaxantinnal,  $\alpha$ -tokoferollal,  $\gamma$ -tokoferollal egészítettük ki. A gomba biomasszáját és a mikotoxinokat 14 napos tenyésztés után számszerűsítettük; szintjüket a kontroll és a kezelt körülmények között hasonlítottuk össze.

Az inkubálást követően a tenyészeteket 3000 g-vel centrifugáltuk 15 percig. A felülúszókat -20 °C-on tároltuk a fumonizinek mennyiségi meghatározása előtt. A gomba biomasszáját a micéliumpellet lemerésével mértük 48 órás 80 °C-os szárítás után. A tenyésztést három ismétlésben végeztük. A tenyészetek toxinkivonása a 4.3.5.-ös fejezetben leírtak alapján történt.

#### **4.7. A szemes cirok minták mikotoxin szennyezettségének vizsgálata**

A szemes cirok szemtermések mikotoxin szennyezettségének vizsgálatait a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élelmiszertudományi és Technológiai Intézetében végeztük el. A kísérlet során a fumonizin, zearalenon, beauvericin, HT-2, T-2 és deoxinivalenol toxinok jelenlétét vizsgáltuk a 2021-es és 2022-es évben gyűjtött 30 különböző szemes cirok minta esetében.

##### *4.7.1. A minták előkészítése*

Összesen 30 különböző cirok szemtermés került vizsgálatra a 13 különböző gyűjtési pontról. A cirokszemeket a vizsgálatok előtt szárítottuk és őröltük. Az első lépésben  $5 \pm 0,2$  g-ot mértünk 50 ml-es műanyag csövekbe 25 ml extrakciós oldószerkelet hozzáadásával (acetonitril/víz/hangyasav, 79/20/1 v/v%). Az extrakciót vízszintes laboratóriumi rázógépen (Shaking Table 2125, Magyarország) végeztük 270 perc-1 sebességgel 60 percig. A mintákat ezután Hermle Z 206 centrifugával centrifugáltuk 15 percig 4000 g-vel, és 4,0 ml felülúszót vittünk át egy fiolába. Az alikvot részeket N<sub>2</sub> gázáram alatt szobahőmérsékleten bepárooltuk. A mintákat

750 µl A/B eluensekkel eluáltuk acetonitril/víz/hangyasav 75/24,9/0,1 térfogatarányban a korábbi publikációk alapján, majd 0,22 µM PTFE fecskendőszűrőn szűrtük, végül HPLS-MS/MS rendszerbe fecskendeztük (Varga et al. 2021).

#### 4.7.2. Multimikotoxin analízis LC-MS/MS módszerrel

A minták mikotoxin-szennyezettségének méréséhez a mikotoxin standard MIX törzsoldata (10,01 µg/ml DON; 1,00 µg/ml T2; 10,04 µg/ml HT-2; 3,03 µg/ml ZEA; 5,02 µg/ml FB1; 5,01 µg/ml) használtunk (Romer Lab, Ausztria). A BEA standardhoz 10,0 µg/ml koncentrációjú metanolos törzsoldatot alkalmaztunk, amely a kristályos BEA standardból (Romer Lab, Ausztria) és metanolból tevődött össze. A cirokminták extraktumainak kvantitatív analíziséhez mátrix-illesztett kalibrációs módszert alkalmaztunk a törzsoldatok arányos hígításával acetonitril/víz/hangyasav (75:24,9:0,1 V/V) oldószerkeveréssel.

A cirokminták mikotoxinjainak meghatározására Agilent 1290 HPLC rendszert (Agilent Technologies) használtunk, háromkvadrupólus tömegspektrométerrel (Agilent Ultivo LC/TQ, Németország) elektropray ionizációs (ESI) interfésszel. A műszervezéléshez, adatgyűjtéshez és -feldolgozáshoz az Agilent Mass Hunter Analyzes szoftvert használtuk. A kromatográfiás elválasztást az Agilent (Németország) által gyártott Eclipse Plus C18 RRHD, 1,8 µm (2,1 x 50 mm) oszloppal végeztük. A mikotoxinok kromatográfiás elválasztásához egy bináris mozgófázist használtunk, amely 5 mM ammónium-acetátot tartalmazó vizet, 0,1%-os ecetsavat (A oldószer) és metanolt (B oldószer) tartalmazott, azonos sótartalommal és savkoncentrációval (Varga et al. (2021)). A befecskendezési térfogat 5 µL, az áramlási sebesség 0,4 ml/perc, az oszlop hőmérséklete 40 °C. A kromatográfiás elemzések időtartama 7 perc volt egy menetben gradiens elúciós profillal. ion üzemmódban DON, FB1, HT-2, T2 és BEA esetén, míg negatív üzemmódban ZEA esetén a következő ionforrás beállításokkal: gázhőmérséklet: 300 °C, gázáramlás: 9,0 l/perc, porlasztónyomás: A 40 psi, a kapilláris feszültség 2500 V, a negatív üzemmód esetén 4000 V. A tömegspektrométer többszörös reakciófigyelő (MRM) üzemmódban működött, mindegyik prekursor két-két átmenetét mérte (1 kvantitatív, 1 kvalitatív).

Az analitikai módszert az IUPAC, az Eurachem és az Európai Unió egyetlen laboratóriumi validációra vonatkozó koncepciója alapján validálta (Magnusson és Ornemark 2014; 2002/657/EK) (Varga et al. 2021). A kimutatási határ (LOD) értéke 0,5; 1,20; 0,07; 0,05; 0,16 és 0,005 µg/kg volt a DON, FB1, HT-2, T2, ZEA és BEA esetében. A mennyiségi meghatározási határérték (LOQ) 1,70; 3,90; 0,24; 0,17; 0,52 és 0,02 µg/kg volt ugyanazon analitokra.

#### 4.8. Statisztikai számítások

Az eredmények statisztikai értékeléséhez Rstudio 4.3.1. (Bécs, Ausztria) és XLSTAT (Addinsoft, Rennes, Franciaország) statisztikai programot alkalmaztuk, továbbá az ábrák elkészítéséhez XLSTAT (Addinsoft, Rennes, Franciaország) és Rstudio szoftvereket alkalmaztunk. A statisztikai értékelések során az eredmények esetében a szórások (SD) feltüntetésre kerültek. Továbbá ANOVA vizsgálatokat végeztünk a szignifikancia megállapítására a szemes cirok szemtermések belső fertőzöttségi értékeinek esetében, a szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be. A *Fusarium* fajok mikotoxin-termelő képességének vizsgálata során az eredményeket három biológiai ismétlés átlagértéke  $\pm$  szórásaként adtuk meg. A fumonizinek bioszintézisére gyakorolt lipofil antioxidánsok hatásának vizsgálata során mivel az adatok nem normális eloszlásúak voltak (Shapiro-Wilk normalitás teszt), az adatok összehasonlítását (kontroll vs. kezelt) Mann-Whitney teszttel (páratlan teszt) végeztük. A szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.



## 5. Eredmények és azok megbeszélése

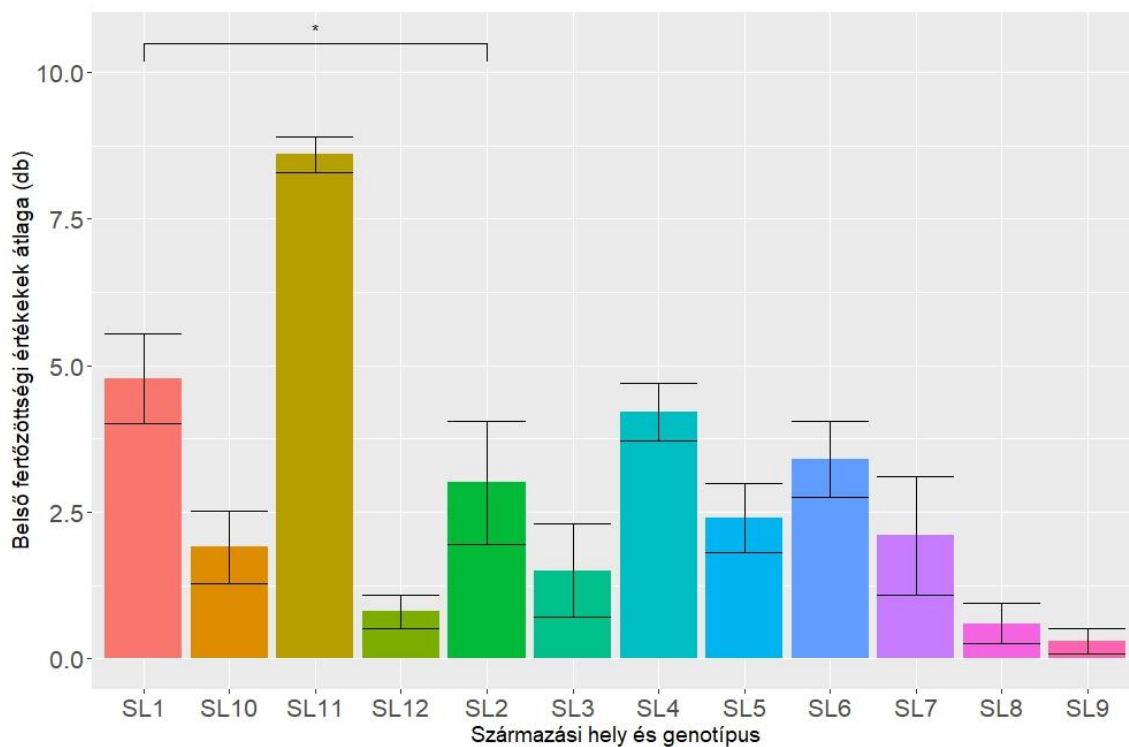
### 5.1. A szemtermések belső fertőzöttségének vizsgálati eredményei

A szemes cirok szemtermések belső fertőzöttségének értékelésénél 3 nemzetséget vizsgálatunk; a *Fusarium*, az *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetséget. Tapasztaltunk ugyan *Alternaria* nemzetségbe tartozó gombák által okozott belső fertőzöttséget is, azonban kutatásaink során erre a nemzetségre részletesen nem tértünk ki és nem vizsgáltuk.

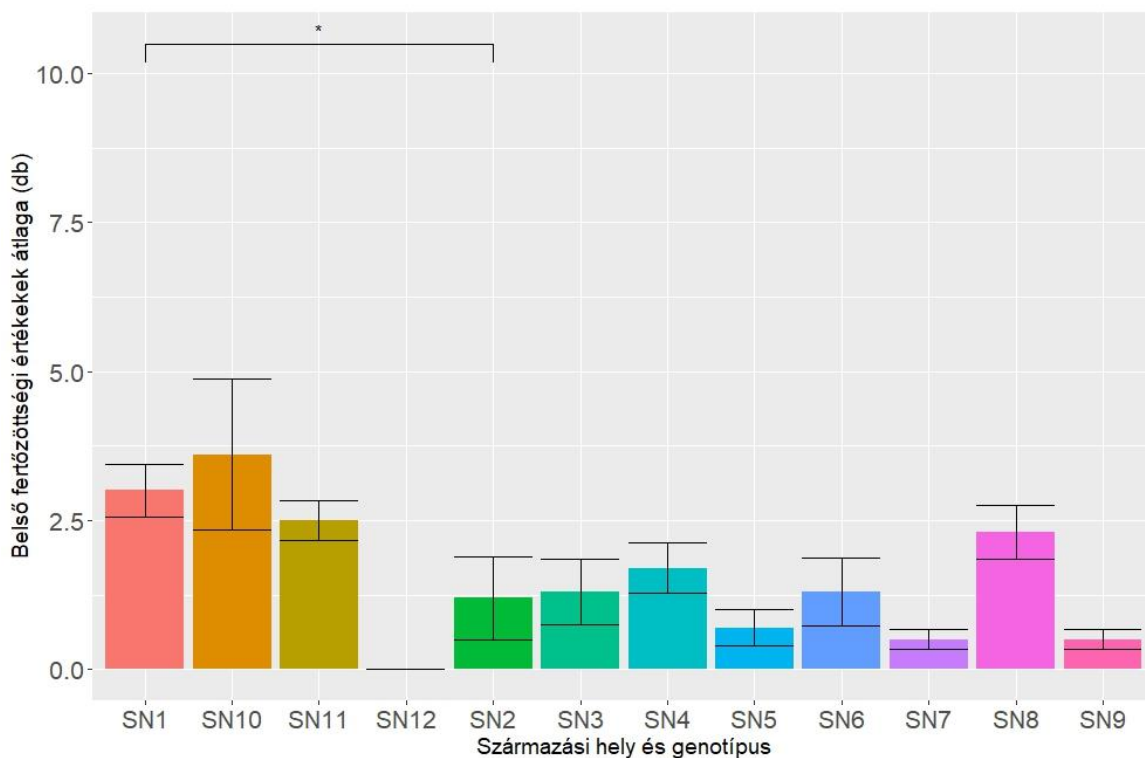
Az 1-es szemes cirok genotípus szemterméseit a 2021-es évben gyűjtöttük, melynek átlagos belső fertőzöttségei értékei az 8. ábrán láthatók. A belső fertőzöttségi értékek esetében a származási helyet figyelembe véve a belső fertőzöttségi értékek szignifikáns különbséget mutatnak (Melléklet – M6 – 17. táblázat). A legmagasabb belső fertőzöttségi értéket a három nemzetség által a SL11-es mintában tapasztaltuk, ahol átlagosan majdnem 8 szemtermés volt fertőzött valamely gomba nemzetség által. A legalacsonyabb belső fertőzöttségi értéket a SL9-es minta esetében tapasztaltuk, amelynek az átlagos értéke 0,5 fertőzött szemtermés volt.

A 2-es genotípus esetében (2021) (9. ábra) a belső fertőzöttségi értékek a származási hely tekintetében szintén szignifikáns különbséget mutattak (Melléklet – M6 – 18. táblázat). A SN10-es minta esetében tapasztaltuk a legmagasabb belső fertőzöttségi értéket, míg a SN12-es minta esetében a szemtermések nem mutattak belső fertőzöttséget a három gombanemzetség egyikével sem. Azonban ezen minta esetében tapasztaltuk a nagyfokú *Alternaria* nemzetség által okozott belső fertőzöttségeket, ahogy fentebb említettük erre a nemzetségre kísérleteink során részletesen nem tértünk ki.

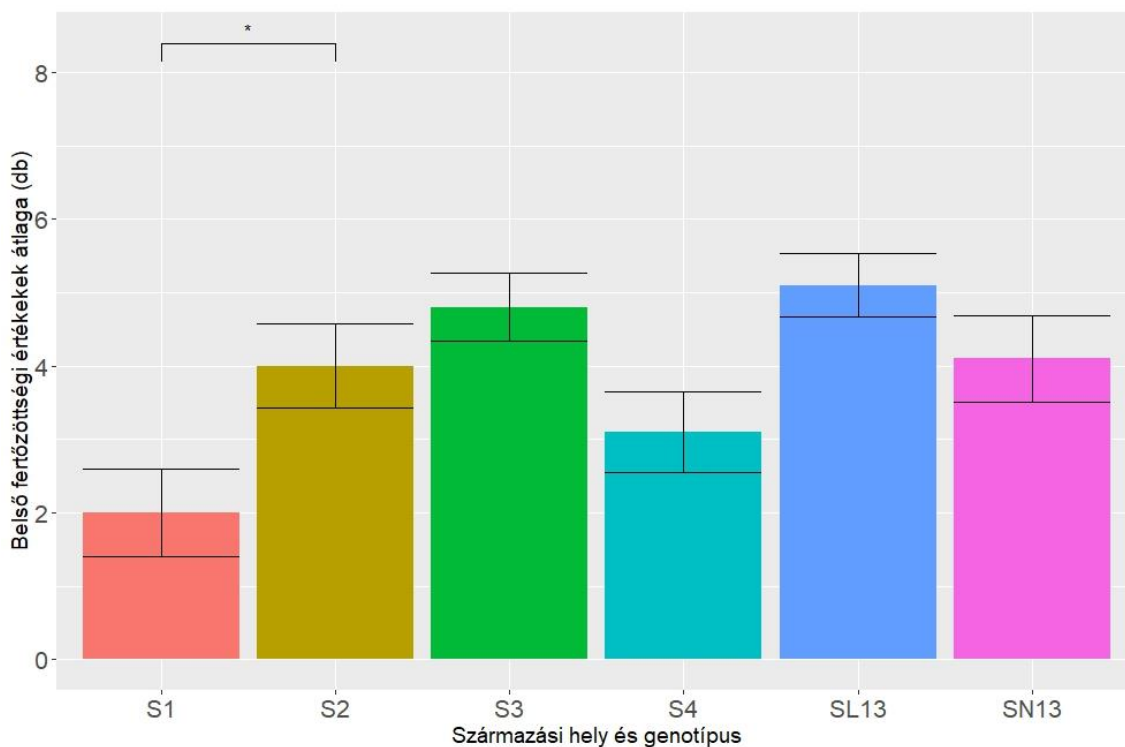
A 2022-es termesztési évből származó szemtermések esetében a belső fertőzöttségi értékek a 10. ábrán láthatóak. A legmagasabb belső fertőzöttségi értéket az SL13-as minta esetében tapasztaltuk, ahol átlagosan 10 szemtermésből 4,5 szemtermés volt fertőzött a három nemzetség valamelyik tagjával. Az SL13-as minta genotípusa megegyezik a 2021-es év 1-es genotípusával. A legalacsonyabb belső fertőzöttségi értéket a S1 minta esetében detektáltuk, ahol átlagosan 2 db szemtermés esetében tapasztaltunk belső fertőzöttséget a *Fusarium*, *Aspergillus* és *Penicillium* fajok valamelyikével. A származási hely ebben az esetben is mutatott szignifikáns különbséget (Melléklet – M6 – 19. táblázat). Az SL13-as minta azon genotípusú szemes cirok, mint a 2021-es évből származó SL mintás genotípusok. Az ábrákról jól látszik, hogy ezen genotípus esetében a belső fertőzöttségi értékek magasabbak voltak, mint más genotípusok esetében. A 2021-es évben vizsgált két genotípus megegyezik az SL13-as (1-es genotípus) és az SN13-as (2-es genotípus) minták genotípusaival. A 10. ábrán jól látható, hogy a G1-es genotípus esetében a belső fertőzöttségi értékek magasabbak voltak a többi vizsgált genotípushoz képest.



8. ábra: Szemtermések belső fertőzöttségének átlaga (db) a három vizsgált nemzetség alapján az 1-es genotípus esetében 2021-ben a különböző termőhelyek függvényében szórásértékekkel (SD) és a szignifikáns különbségek megjelölésével (\*)



9. ábra: Szemtermések belső fertőzöttségének átlaga (db) a három vizsgált nemzetség alapján a 2-es genotípus esetében 2021-ben szórásértékekkel (SD) és a szignifikáns különbségek megjelölésével (\*)



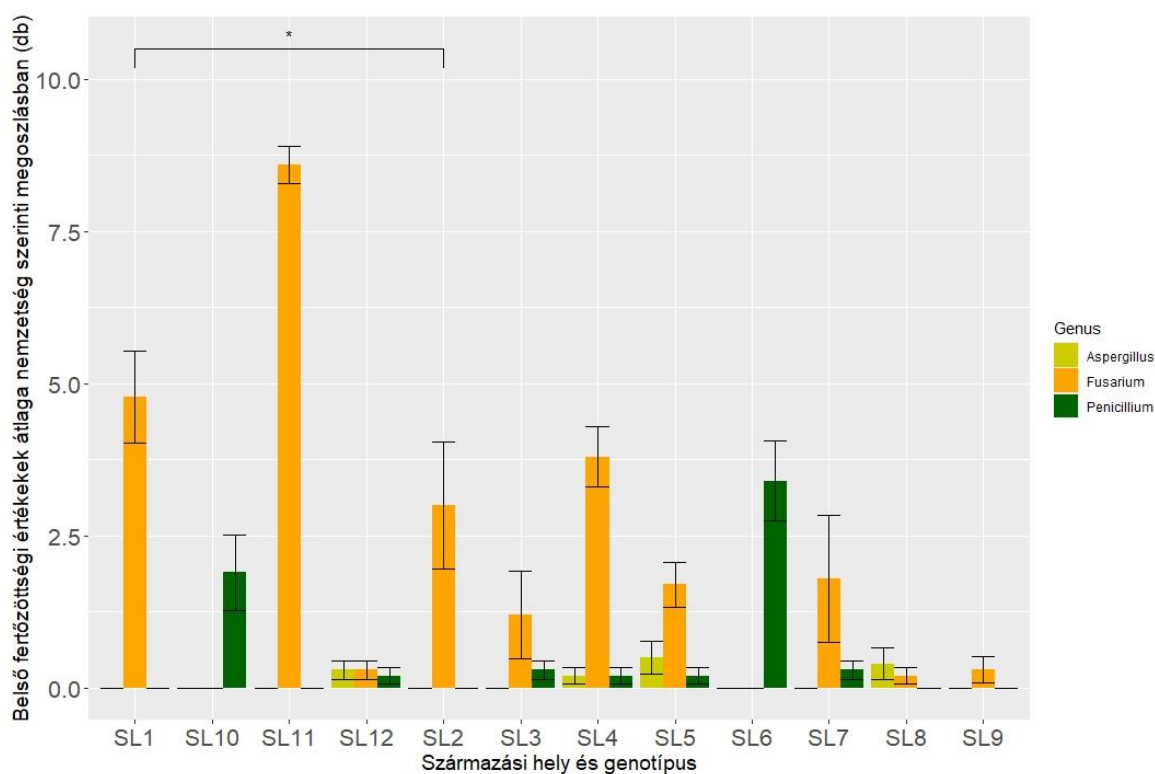
10. ábra: Szemtermések belső fertőzöttségének átlaga (db) a három vizsgált nemzetség alapján az 1-es (SL13), a 2-es (SN13) és a további vizsgált genotípusok esetében 2022-ben szóráserővel (SD) és a szignifikáns különbségek megjelölésével (\*)

A nemzetségek közötti megoszlási vizsgálatok alapján elmondható, hogy minden minta esetében a *Fusarium* nemzetség a domináns nemzetség a belső fertőzöttségi értékeket tekintve. Az *Aspergillus* nemzetség fajai ritkábban jelentek meg a belső fertőzöttségi értékek vizsgálata során. Az 1-es genotípus esetében 4 mintában tapasztaltunk *Aspergillus* fajok által okozott belső fertőzöttséget, míg *Penicillium* fajok által okozott belső fertőzöttséget 7 szemes cirok minta esetében. *Fusarium* fajok által okozott belső fertőzöttséget 9 minta esetében detektáltunk (11. ábra). A *Fusarium* fajok által okozott átlagos belső fertőzöttségi érték az 1-es genotípus esetében 2,1 darab szemtermés volt, az fertőzött szemtermések számának minimuma 0 és maximuma 10 szemtermés volt. Az *Aspergillus* fajok által okozott átlagos belső fertőzöttség 0,117 szemtermés volt, a belső fertőzöttségi értékek minimuma 0 és maximuma 2 szemtermés volt, továbbá a *Penicillium* fajok által okozott átlagos belső fertőzöttség mértéke 0,54 darab szemtermés volt, melynek minimuma 0 és maximuma 7 darab szemtermés volt. A statisztikai számítások táblázatai az M6-os melléklet 20. táblázatában érhetőek el.

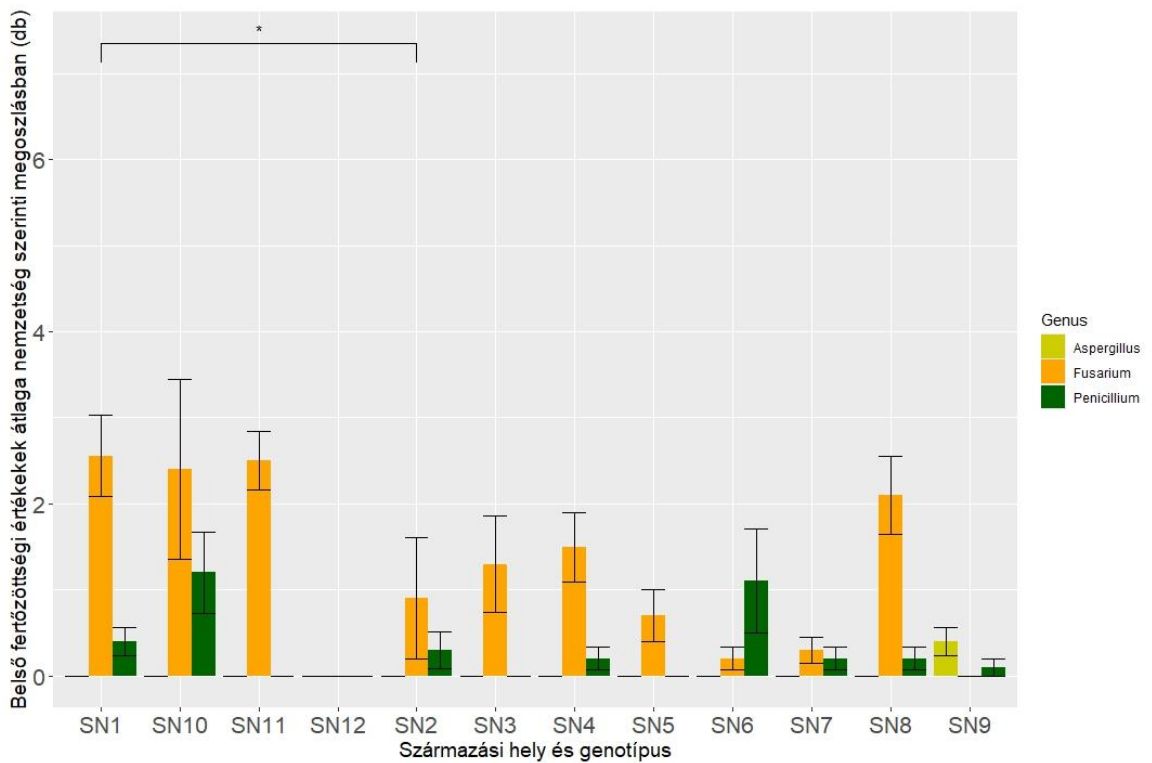
A 2-es genotípus esetében szintén a *Fusarium* nemzetség fajai domináltak, amelyeket 10 minta esetében detektáltunk. Az *Aspergillus* fajok egy minta esetében fordultak elő, míg a *Penicillium* nemzetség tagjai 8 mintában jelentek meg (12. ábra). A *Fusarium* fajok által okozott átlagos belső fertőzöttségi érték 1,23 darab szemtermés volt, az fertőzött szemtermések számának minimuma 0 és maximuma 7 db szemtermés volt, továbbá a *Penicillium* fajok által okozott átlagos

belső fertőzöttség mértéke 0,31 darab szemtermés volt, melynek minimuma 0 és maximuma 6 db szemtermés volt. A statisztikai számítások táblázatai az M6-os melléklet 21. táblázatában érhetőek el.

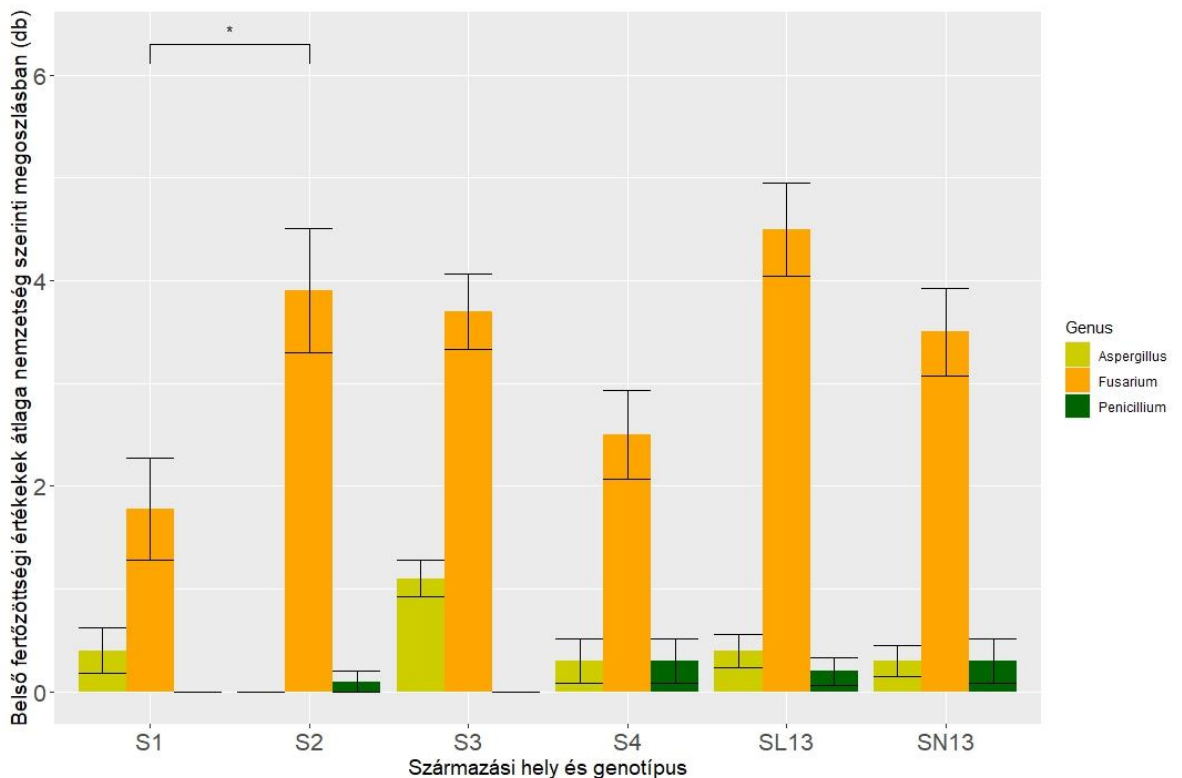
A 2022-es év mintagyűjtése esetében is a *Fusarium* fajok domináltak, amelyeket mind a 6 vizsgált szemes cirok minta esetében tapasztaltunk. Az *Aspergillus* fajok dominanciája nőtt a 2022-es évben, ezen cirok minták esetében 5 minta esetében detektáltunk *Aspergillus* fajok által okozott belső fertőzöttséget, míg *Penicillium* fajokat 4 szemes cirok mintában detektáltunk (13. ábra). A *Fusarium* fajok által okozott átlagos belső fertőzöttségi érték 3,32 db szemtermés volt, a fertőzött szemtermések számának minimuma 0 és maximuma 6 db szemtermés volt. Az *Aspergillus* fajok által okozott átlagos belső fertőzöttség 0,42 db szemtermés volt, a belső fertőzöttségi értékek minimuma 0 és maximuma 2 volt, továbbá a *Penicillium* fajok által okozott átlagos belső fertőzöttség mértéke 0,15 szemtermés volt, melynek minimuma 0 és maximuma 2 volt. A statisztikai számítások táblázatai az M6-os melléklet 22. táblázatában érhetőek el.



11. ábra: Szemtermések belső fertőzöttségének átlaga nemzetség szerinti megoszlásban az 1-es genotípus esetében a 2021-es évben szórásértékekkel (SD) és a szignifikancia megjelölésével (\*)



12. ábra: Szemtermések belső fertőzöttségének átlaga nemzetség szerinti megoszlásban a 2-es genotípus esetében a 2021-es évben szórásértékekkel (SD) és a szignifikancia megjelölésével (\*)



13. ábra: Szemtermések belső fertőzöttségének átlaga nemzetség szerinti megoszlásban (db) az 1-es (SL13), a 2-es (SN13) és a további vizsgált genotípusok esetében 2022-ben szórásértékekkel (SD) és a szignifikancia megjelölésével (\*)

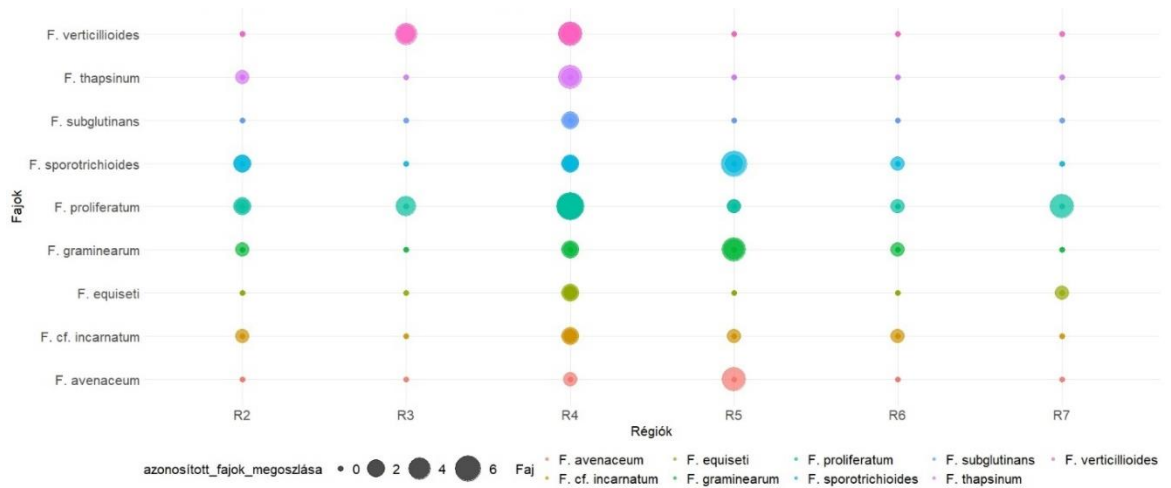
## 5.2. A vizsgált gomba nemzetségek faj szintű azonosítása

### 5.2.1. Az izolált *Fusarium* fajok molekuláris genetikai vizsgálatának eredményei

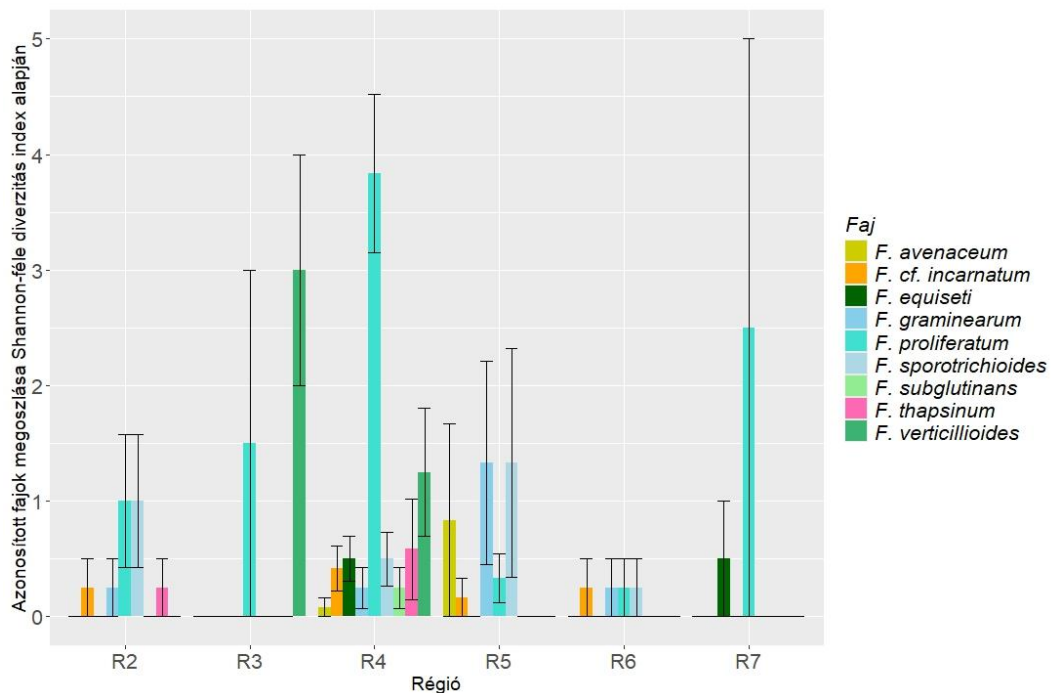
A *Fusarium* nemzetség faj szintű azonosításához 170 darab *Fusarium* monospóras tenyészetet készítettünk. A 170 darab tenyészetből DNS kivonást végeztünk, majd a DNS mintákkal és az EF1/EF2 primer párral PCR futtatásokat végeztünk (38-49. ábra). A gél elektroforézis eredményeként mind a 170 esetben amplifikálódott az elongációs faktorra specifikus gén régió, azonban a PCR termékek szekvenálása után 145 esetben kaptunk értékelhető szekvenciákat. Az M3-as melléklet 14. táblázata tartalmazza a tenyészet és DNS kódját, a szemtermések származási helyét, amelyről izolálásra kerültek az adott fajok, a származási hely és a genotípus kódját, az azonosított fajt és az NCBI elérési számot, amely alapján az adatbázisban fellelhetőek az adott fajhoz tartozó szekvenciák és a referencia szekvenciák (14. táblázat – M3 - Melléklet). Az izolált *Fusarium* fajok molekuláris genetikai vizsgálata során összesen 9 különböző *Fusarium* fajt azonosítottunk (7. táblázat), amelyből 60 db *F. proliferatum*, 21 db *F. verticillioides*, 19 db *F. sporotrichioides*, 13 db *F. graminearum*, 8-8 db *F. thapsinum* és *F. cf. incarnatum*, 7 db *F. equiseti*, 6 db *F. avenaceum* és 3 db *F. subglutinans* fajt azonosítottunk. A fajok megoszlása a 14. ábrán látható régiók alapján, továbbá a Shannon-féle diverzitás index alapján a fajok megoszlása a 15. ábrán láthatók. Az azonosított *Fusarium* fajok mindegyike képes valamilyen mikotoxin termelésére.

7. táblázat: A cirok szemtermések belő fertőzőttségének felmérése során azonosított *Fusarium* fajok dominanciaviszonyai (megoszlás)

Faj	Azonosított izolátumok száma (db)	Azonosított izolátumok aránya (%)
<i>F. proliferatum</i>	60	41,4 %
<i>F. verticillioides</i>	21	14,5 %
<i>F. sporotrichioides</i>	19	13,1 %
<i>F. graminearum</i>	13	8,9 %
<i>F. cf. incarnatum</i>	8	5,5 %
<i>F. thapsinum</i>	8	5,5 %
<i>F. equiseti</i>	7	4,8 %
<i>F. avenaceum</i>	6	4,1 %
<i>F. subglutinans</i>	3	2 %



14. ábra: Az azonosított *Fusarium* fajok megoszlása a szemes cirok szemtermések gyűjtési helye szerint, régióként. A régiók kódjai a következő régiókat (NUTS 2) jelöli; R2=Észak-Magyarországi Régió, R3=Észak-Alföldi Régió, R4=Dél-Alföldi Régió, R5=Dél-Dunántúli Régió, R6=Nyugat-Dunántúli Régió, R7=Közép-Dunántúli Régió.

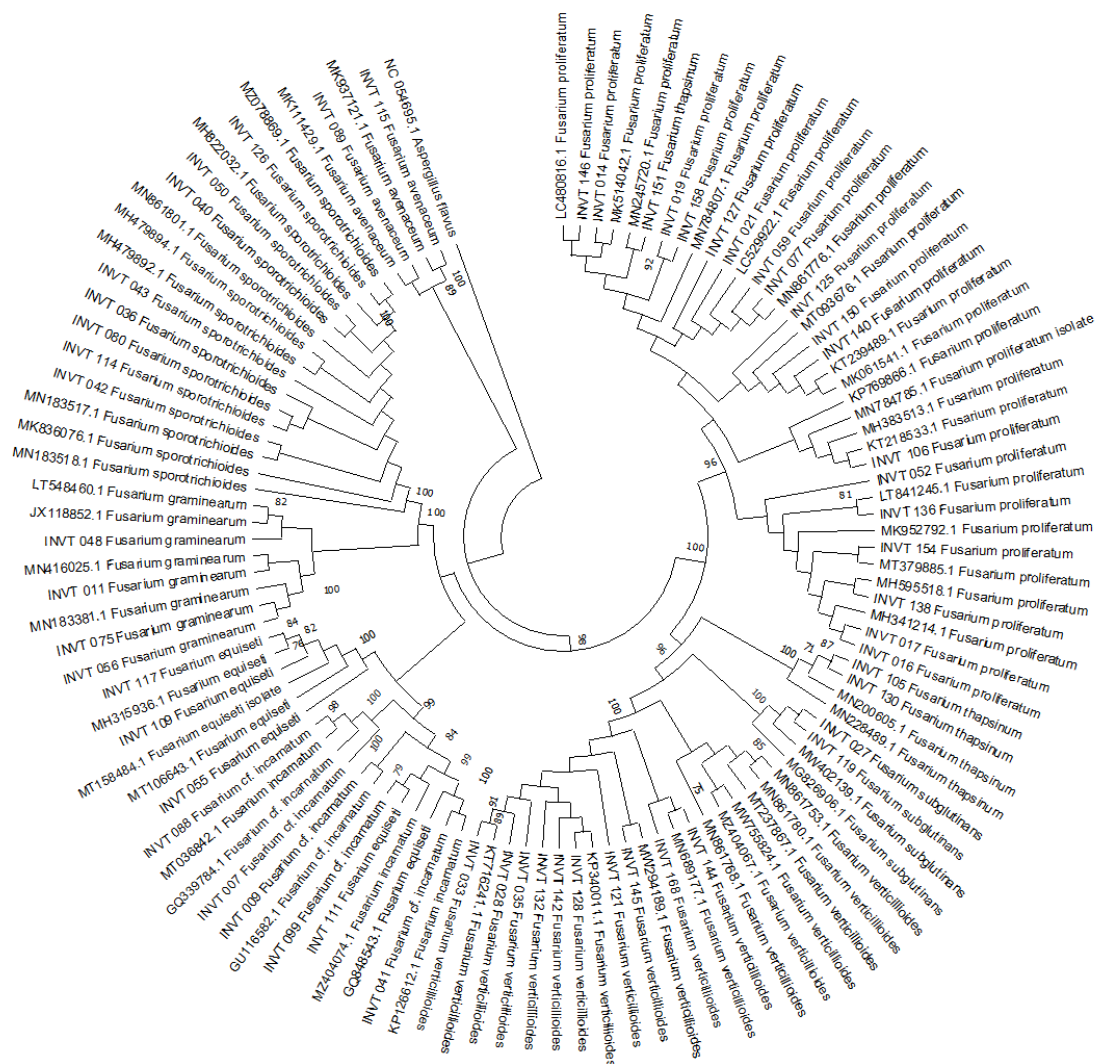


15. ábra: Az azonosított *Fusarium* fajok megoszlása a szemes cirok szemtermések gyűjtési helye szerint, régióként Shannon-féle diverzitás index alapján, szórásértékekkel (SD). A régiók kódjai a következő régiókat (NUTS 2) jelöli; R2=Észak-Magyarországi Régió, R3=Észak-Alföldi Régió, R4=Dél-Alföldi Régió, R5=Dél-Dunántúli Régió, R6=Nyugat-Dunántúli Régió, R7=Közép-Dunántúli Régió.

### 5.2.2. Az azonosított *Fusarium* fajok filogenetikai analízise

Az azonosított *Fusarium* fajok mindegyikéből kiválasztott 1-1 darab TEF-1 $\alpha$  génszekvenciákat összehasonlítottuk az NCBI adatbázisában található különböző ismert *Fusarium* fajok szekvenciáival. A tesztizolátumok TEF-1 $\alpha$  génszekvenciájának felhasználásával megszerkesztett maximális valószínűségű (Maximum-likelihood - ML) filogenetikai fa ugyanazon faj izolátumait különálló csoportokba csoportosította. Az analízis során egy külső csoportból

származó fajt is feltüntetünk, amely az *A. flavus* volt (NC054695.1) (16. ábra). A filogenetikai fa három kládot tartalmaz, az I. kládnak két fő alcsoportja van, amelybe az *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. thapsinum* és a *F. verticillioides* tartozik. A II. klád egy különálló klád, amelybe az *F. avenaceum* tartozik, továbbá a III. klád két fő alcsoportot tartalmaz, melybe *F. cf. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* tartozik.



16. ábra: Maximum-likelihood dendrogram a *Fusarium* spp. *TEF1-α* szekvenciáihoz. A címkeken a fajok nevei szerepelnek, majd a törzs neve és/vagy száma, valamint a használt szekvenciának megfelelő GeneBank hozzáférési szám. Az ágak alatt látható azon replikált fák százalékos aránya (>70%), amelyekben a társított taxonok a bootstrap tesztben csoportosultak (100 ismétlés).



### 5.2.3. Az izolált *Aspergillus* fajok molekuláris genetikai vizsgálatának eredményei

Az izolált *Aspergillus* nemzetség tagjainak faj szintű azonosítása során 23 darab tiszta tenyészetet hoztunk létre. A PCR termékeket CL1/CL2A primer párral készítettük el először a DNS-ek amplifikációjához, abban az esetben, ha nem történt amplifikáció, akkor a cmd5/cmd6 primerrel is futtatásra kerültek a DNS-ek (Melléklet – M5 - 50-60. ábra). A kapott eredmények alapján 23 PCR termék szekvenálása történt, a szekvenciákat az NCBI BLAST-tal ellenőriztük, majd a szekvenciák feltöltésre kerültek az NCBI adatbázisába is (Melléklet – M3 – 15. táblázat). Az 8. táblázat tartalmazza az azonosított *Aspergillus* fajok dominanciaviszonyait. Az molekuláris genetikai vizsgálatok során 2 db *A. oryzae* és 19 db *A. flavus* faj azonosítása történt. Az azonosított 2 db *A. oryzae* izolátum két különböző mintából került izolálásra.

8. táblázat: A szemes cirok szemtermékek belső fertőzöttségének értékelése során azonosított *Aspergillus* fajok dominanciaviszonyai (megoszlás)

Faj	Azonosított izolátumok mennyisége (db)	Azonosított izolátumok aránya (%)
<i>A. flavus</i>	19	90%
<i>A. oryzae</i>	2	10%

### 5.2.4. Az izolált *Penicillium* fajok molekuláris genetikai vizsgálatának eredményei

Az izolált *Penicillium* nemzetség tagjainak faj szintű azonosítása során 60 darab tiszta tenyészetet hoztunk létre. A 60 darab tiszta tenyészet DNS kivonása után a PCR-t CL1/CL2A primer párral végeztük (Melléklet – M5 – 50-57. ábra). A kapott eredmények alapján 60 PCR termék szekvenálása történt, a szekvenciákat az NCBI BLAST-tal ellenőriztük, majd a szekvenciák feltöltésre kerültek az NCBI adatbázisába is (Melléklet – M3 – 16. táblázat). Az 9. táblázat tartalmazza az azonosított *Penicillium* fajok dominanciaviszonyait. Az molekuláris genetikai vizsgálatok során 27 db *P. rubens*, 23 db *P. chrysogenum*, 5 db *P. allii*, 3 db *P. hordei*, 1-1 db *P. polonicum* és *P. crustosum* faj azonosítása történt (9. táblázat).

9. táblázat: A szemes cirok szemtermékek belső fertőzöttségének értékelése során azonosított *Penicillium* fajok dominanciaviszonyai (megoszlás)

Faj	Azonosított izolátumok mennyisége (db)	Azonosított izolátumok aránya (%)
<i>P. rubens</i>	27	45%
<i>P. chrysogenum</i>	23	38,30%
<i>P. allii</i>	5	8,30%
<i>P. hordei</i>	3	5%
<i>P. polonicum</i>	1	1,60%
<i>P. crustosum</i>	1	1,60%

5.2.5. Az azonosított mikotoxin-termelő gombafajok makro- és mikromorfológiai vizsgálata

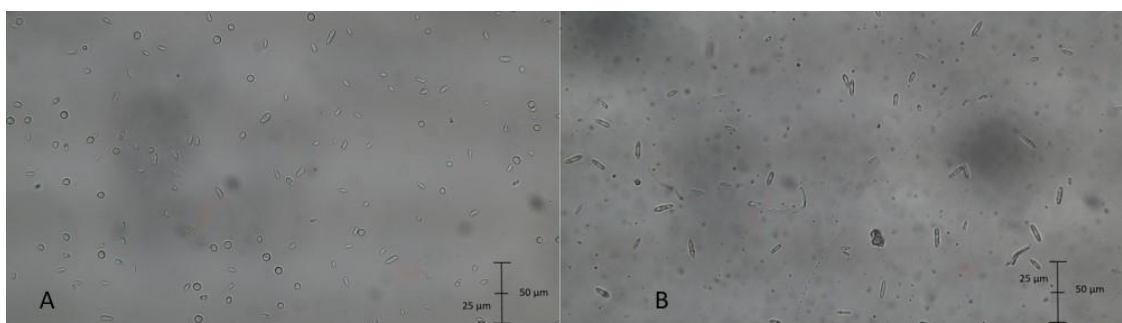
A *Fusarium* nemzetség esetében a molekuláris genetikai vizsgálataink során 9 *Fusarium* fajt azonosítottunk. A fajok makro- és mikromorfológiai jellemzőit az 10. táblázat tartalmazza. A *Fusarium* fajok azonosítására nem elegendő a morfológiai bélyegek vizsgálata, mivel mikro- és makromorfológiailag mindamellet, hogy rendkívül diverzek a fajok, egyes morfológiai bélyegei alapján megkülönböztetésük nem lehetséges. Azonban a fajok morfológiai bélyegeinek vizsgálata nem elhanyagolható.

10. táblázat: Az azonosított *Fusarium* fajok makro- és mikromorfológiai jellemzői

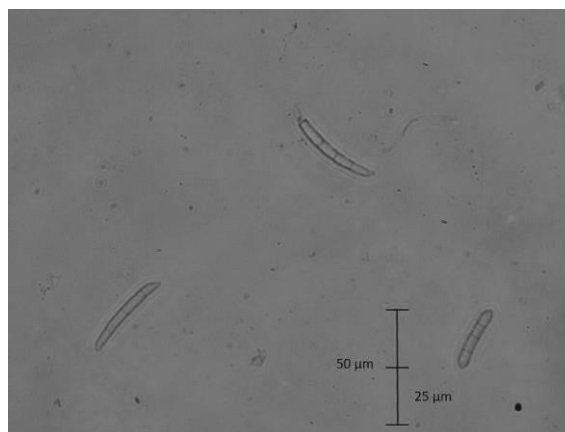
Faj	Telep pigmentáltság, morfológia PDA táptalajon	Konídiumok	Ábra
<i>F. avenaceum</i>	tömött pigmentáltság nélküli micélium, a táptalaj is pigmentáltság nélküli	makrokonídiumokat nem hozott létre a tenyészetekben, a mikrokonídiumok 1-2 szeptummal tagoltak, ovális alakúak	17. ábra A fotó, 26. ábra A és B fotó
<i>F. sporotrichioides</i>	a sporodochiumok narancssárgák, a micélium halvány piros, az agart pirosra színezi	makrokonídiumokat nem hozott létre, a mikrokonídiumok gömb és csepp alakúak	17. ábra B fotó, 26. ábra E és F fotó
<i>F. graminearum</i>	a sporodochiumok sárgás-barnás színűek, a táptalajt pirosra színezi	mikrokonídiumokat nem hozott létre, a makrokonídiumok 4 szeptummal tagoltak	18. ábra, 26. ábra C és D fotó
<i>F. cf. incarnatum</i>	a micélium bézsés-barnás színű, barna pigmentek találhatóak az agarban is	mikrokonídiumok tagolatlanok és enyhén ovális alakúak, a makrokonídiumok 3-5 szeptummal tagoltak	19. ábra A fotó, 25. ábra E, F, G és H fotó

<i>F. equiseti</i>	pigment nélküli, fehér micéliumok, amik barnává színeződtek idővel, a sporodochiumok barnák, sötét barna-barna foltok az agarban is megjelennek	makrokonídiumot képeztek csak a tenyészetek, amelyek 3-5 szeptummal tagoltak	19. ábra B fotó, 25. ábra A, B, C és D fotó
<i>F. proliferatum</i>	a micélium kezdetben fehér, majd lilás-ciklámenes pigmenteket termel, az agar pigmentációja is a fehér és lila árnyalatú	a tenyészeteink makrokonídiumokat nem termeltek, azonban a mikrokonídiumok nagy számban képződtek, amelyek tagolatlanok és gömb alakúak	20. ábra A fotó, 27. ábra
<i>F. verticillioides</i>	pigment nélküli micéliumokat és idővel ciklámenes-pirosas micéliumokat hoztak létre a tenyészetek, az agar is vagy pigment nélküli vagy ciklámen, magenta színű	a tenyészetek nem hoztak létre makrokonídiumokat, a mikrokonídiumok ovális és gömb alakúak, amelyek tagolatlanok	20. ábra B fotó, 30. ábra
<i>F. subglutinans</i>	a micéliumok kezdetben fehérek, majd lilás pigmentáltságúak, a táptalaj is ugyanilyen pigmentáltságokkal rendelkezik	a makrokonídiumok 3 szeptummal tagoltak, a mikrokonídiumok oválisak és tagolatlanok	21. ábra A fotó, 28. ábra
<i>F. thapsinum</i>	kezdetben fehér micéliumokat képez, amelyek idővel lilás pigmenteket vesz fel, az agar is hasonló pigmentáltságot mutat, a sporodochiumok halvány rózsaszínes-narancssárgás pigmentekkel rendelkezik	a tenyészetek makrokonídiumokat nem képeztek, a mikrokonídiumok ovális alakúak voltak	21. ábra B fotó, 29. ábra

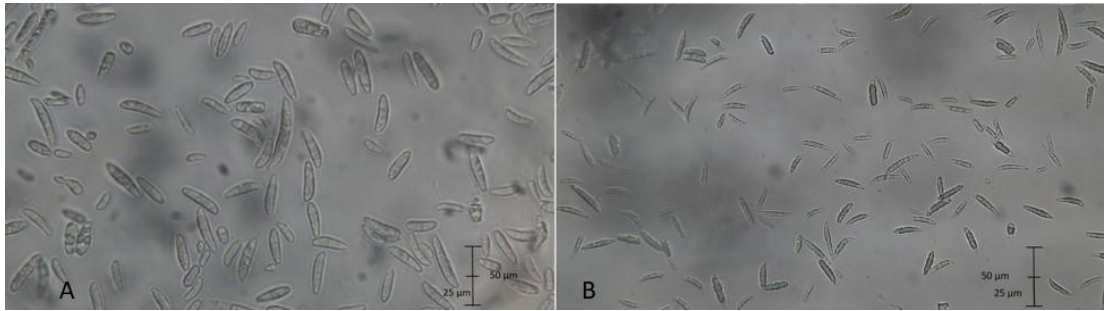
Az azonosított *Aspergillus* fajok makromorfológiai vizsgálata során zöld színű telepeket tapasztaltunk (31. ábra). A mikroszkópi vizsgálataink során a hosszú, egyenes konídiumtartó végén a konídiumok fejet alkotnak a fajok esetében, amelyek az 22. és 23. ábrán láthatóak. A *Penicillium* fajok esetében fekete-szürke-kékes micéliumokat és konídiumokat figyeltünk meg PDA táptalajon. A mikroszkópikus vizsgálatok során konídiumtartókat és konídiumokat figyeltünk meg, amely az 24. ábrán láthatóak. Az *Aspergillus* és *Penicillium* fajok esetében jellegzetesen konídiumok és konídiumtartók alapján nem különíthetőek el a fajok a nemzetségeken belül, továbbá a teleppigmentáltságuk fajok között is rendkívül hasonló.



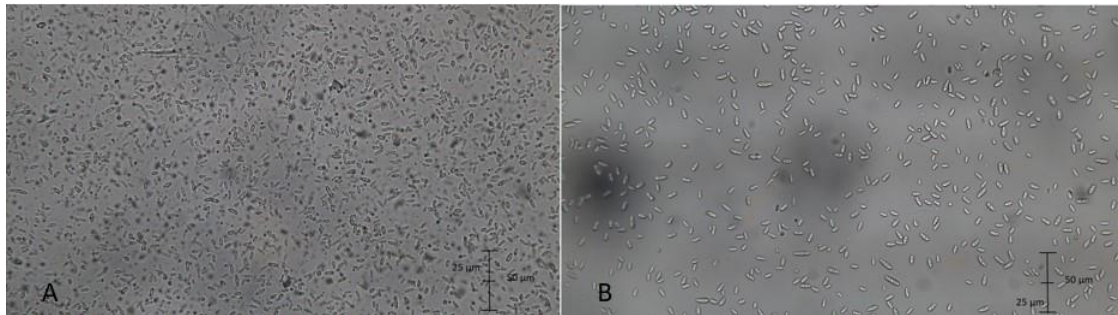
17. ábra: *F. avenaceum* (A) mikorkonídiumai és a *F. sporotrichioides* mikorkonídiumai (Fotó: Szabó 2023)



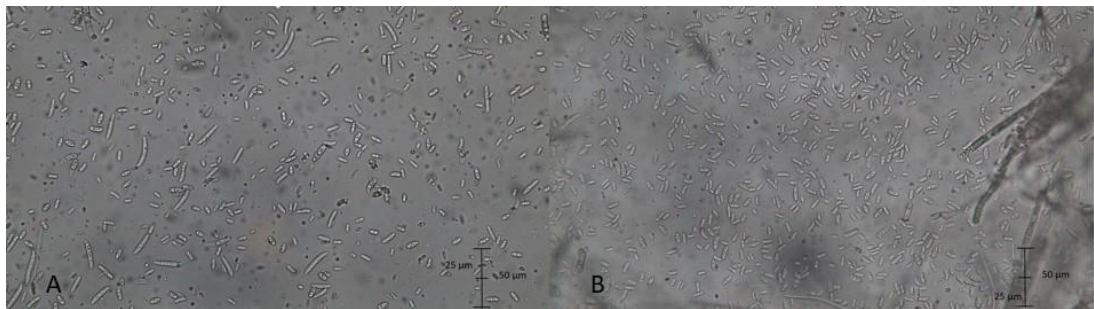
18. ábra: *A F. graminearum* makrokonídiumai (Fotó: Szabó 2023)



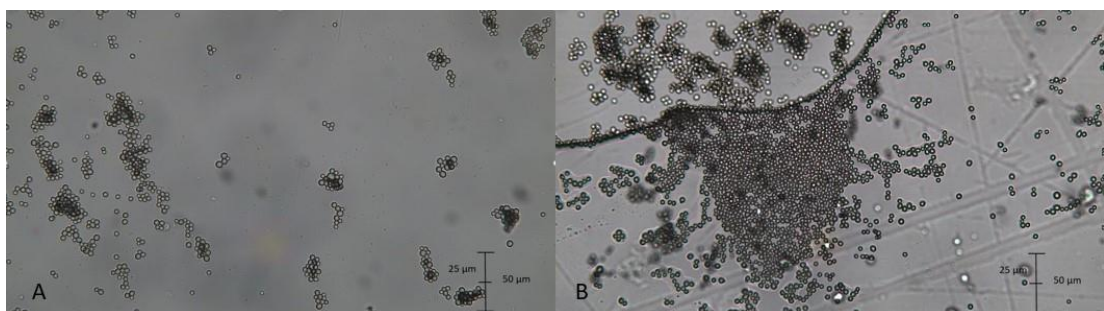
19. ábra: *F. cf. incarnatum* (A) mikro- és makrokonídiumai és az *F. equiseti* (B) makrokonídiumai (Fotó: Szabó 2023)



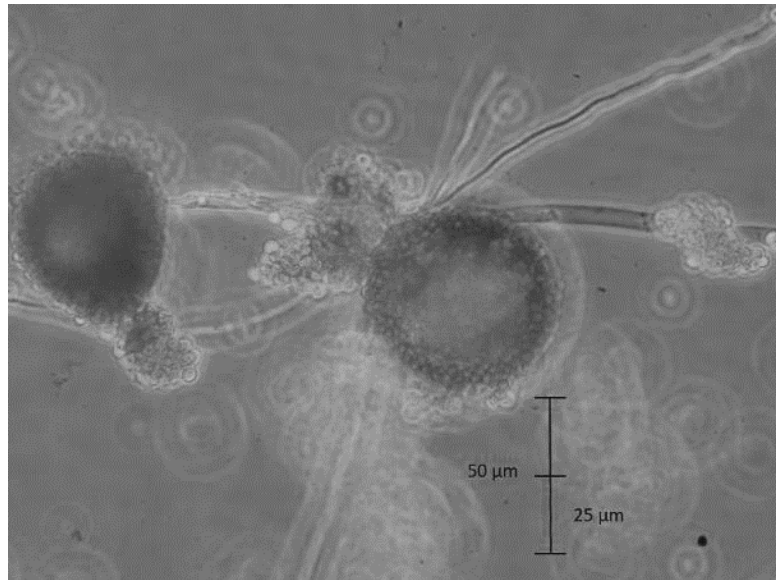
20. ábra: A *F. proliferatum* (A) mikrokonídiumai és a *F. verticillioides* mikrokonídiumai (Fotó: Szabó 2023)



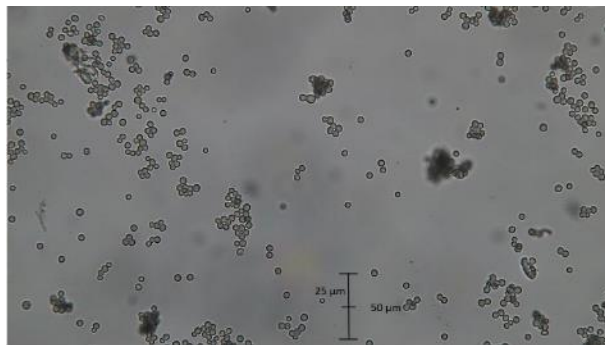
21. ábra: *F. subglutinans* (A) mikro és makrokonídiumai és *F. thapsinum* (B) mikrokonídiumai (Fotó: Szabó 2023)



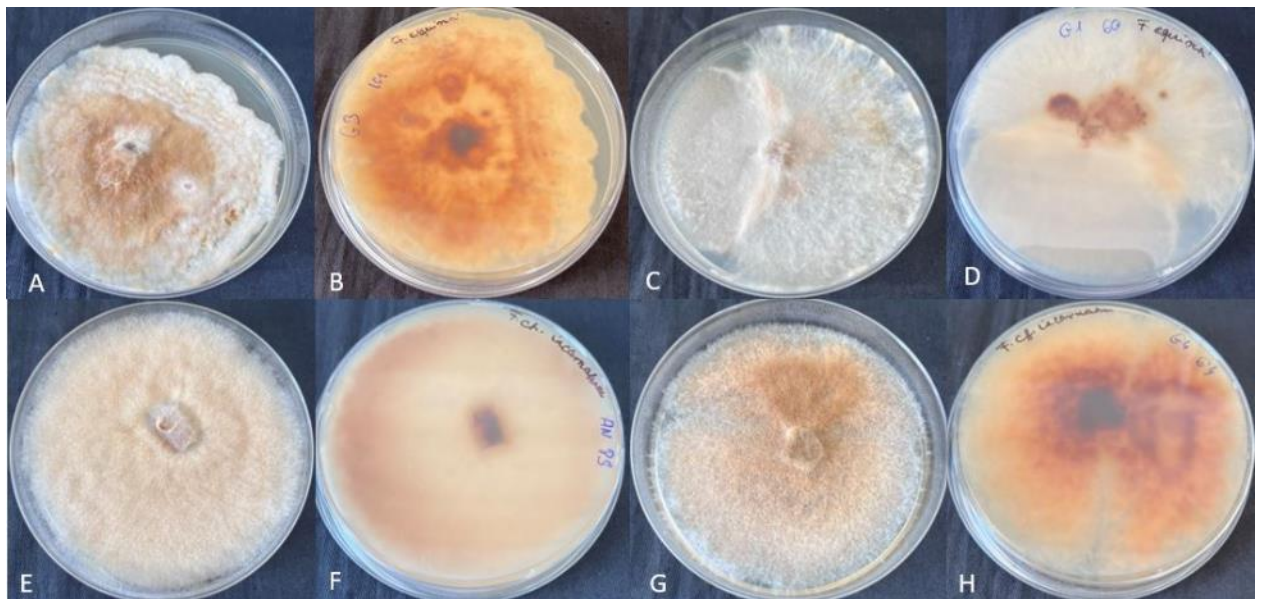
22. ábra: Az *A. flavus* (A) konídiumai és az *A. oryzae* (B) konídiumai (Fotó: Szabó 2023)



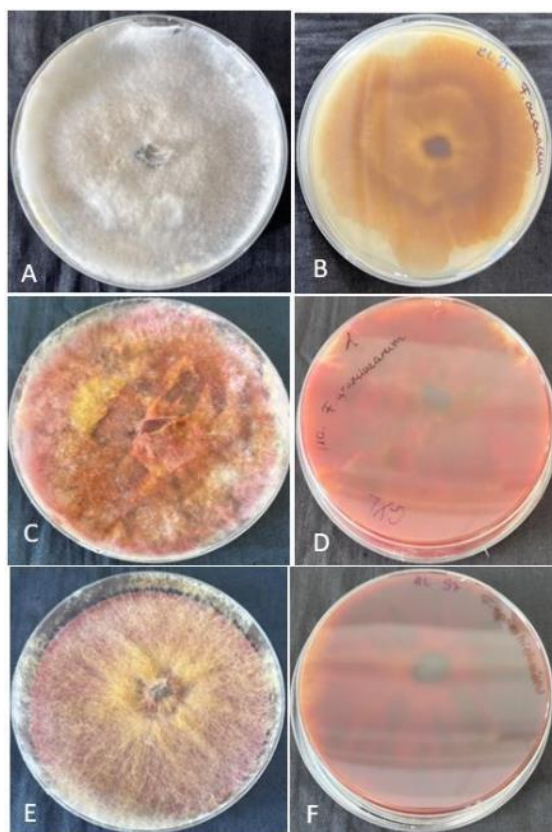
23. ábra: Az *A. flavus* gömb alakú konídiumtartói (Fotó: Szabó 2023)



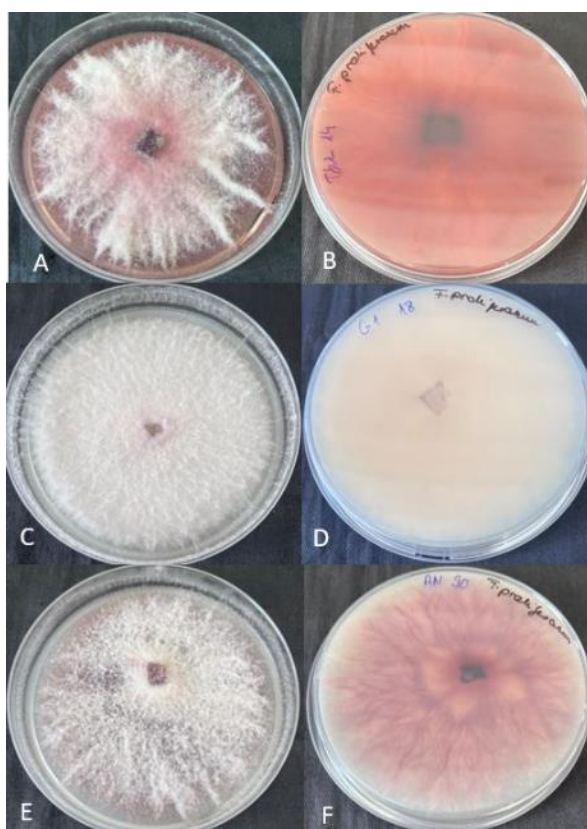
24. ábra: A *Penicillium* spp. - *P. rubens* és *P. chrysogenum* konídiumai (Fotó: Szabó 2023)



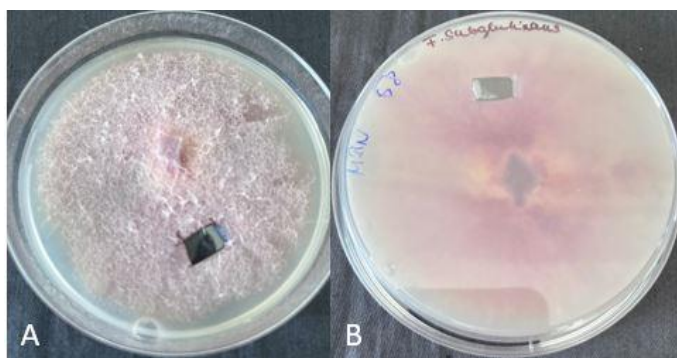
25. ábra: A *F. equiseti* (A, B, C, D) és a *F. cf. incarnatum* (E, F, G, H) tenyészetek PDA táptalajon (Fotó: Szabó 2023)



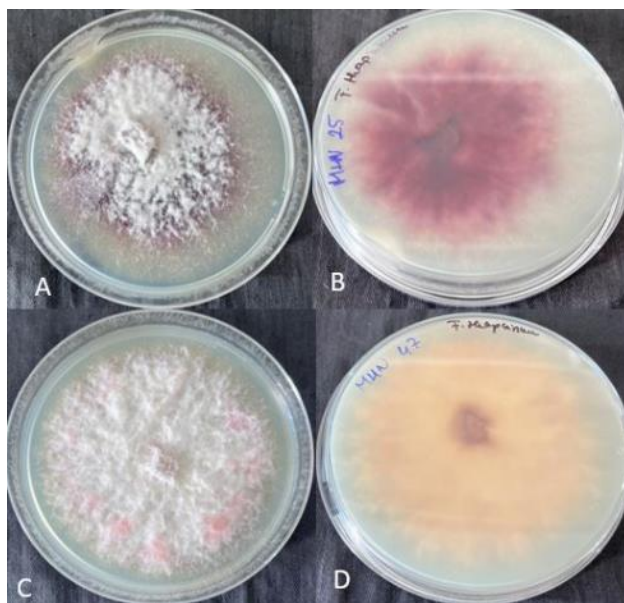
26. ábra: A *F. avenaceum* (A, B), *F. graminearum* (C, D) és a *F. sporotrichioides* (E, F) tenyészetek fotói PDA táptalajon (Fotó: Szabó 2023)



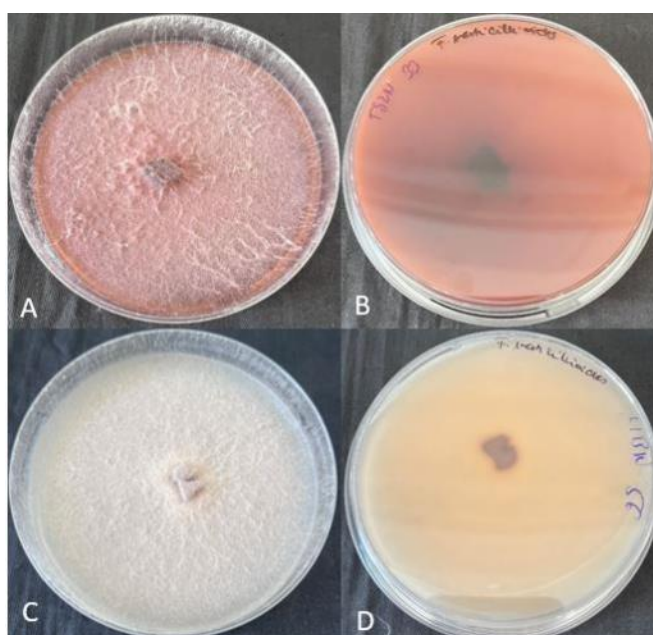
27. ábra: A *F. proliferatum* változatos tenyészei PDA táptalajon (Fotó: Szabó 2023)



28. ábra: *A. F. subglutinans* tenyésztete PDA táptalajon (Fotó: Szabó 2023)

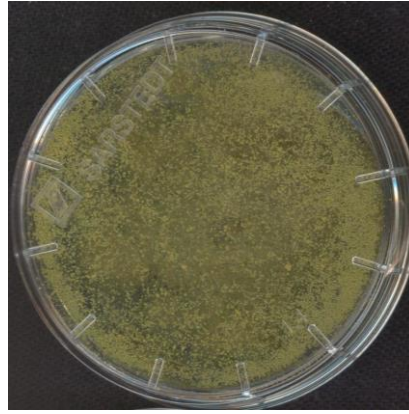


29. ábra: *A. F. thapsinum* változatos tenyésztetei PDA táptalajon (Fotó: Szabó 2023)



30. ábra: *A. F. verticillioides* változatos tenyésztetei PDA táptalajon (Fotó: Szabó 2023)





31. ábra: *A. flavus* tenyésztete PDA táptalajon (Fotó: Szabó 2022)

### 5.3. A kiválasztott *Fusarium* fajok mikotoxin-termelőképességének vizsgálati eredményei

A mikotoxin-termelő képességre vonatkozó vizsgálatokat 14 napos tenyészetekkel végeztük, melynek eredményei a 11. táblázatban láthatóak. A *F. proliferatum* izolátumok esetében fumonizin B1, B2 és B3 termelését is megfigyeltük. Az FB1, FB2 és FB3 toxinok értéktartománya a nem detektált (ND) és 14130,85 µg/g, az ND és 477,72 µg/g, és az ND és 532,50 µg/g értékek között volt. Az FB1, FB2 és FB3 toxinok átlagos értéke a hat izolátum esetében 2956,69 µg/g, 183,76 µg/g és 191,31 µg/g a vizsgált izolátumokban (INVT\_015, INVT\_018, INVT\_020, INVT\_021, INVT\_022, INVT\_023). A *F. verticillioides* izolátumok (INVT\_028; INVT\_033; INVT\_029; INVT\_035; INVT\_031; INVT\_034) esetében fumonizin B1 toxin termelődését figyeltük meg 14 napos tenyésztés után. A szintek tartománya a nem detektálttól (ND) a 177,38 µg/g értékek között volt, ami alacsonyabb, mint a *F. proliferatum* izolátumoknál meghatározott FB1 toxin értékek. Az FB1 alacsony szintjét szintén detektáltuk a *F. cf. incarnatum* (INVT\_007, INVT\_008, INVT\_009) és *F. subglutinans* (INVT\_027) izolátumok esetében. A *F. verticillioides*, a *F. cf. incarnatum* és a *F. subglutinans* esetében FB2 és FB3 jelenlétét is detektáltuk, azonban ezek a mennyiségek értékhatár alatt maradtak.

A *F. graminearum* törzsekről (INVT\_010, INVT\_011, INVT\_012 és INVT\_013) kimutattuk, hogy B típusú trichotecéneket termelnek, mint a deoxinivalenol (DON) és a 15-acetil-deoxinivalenol (15ADON), kivéve az INVT\_08-as izolátumot, amely az általunk vizsgált körülmények között nem termelt DON-t. A DON és a 15ADON értéktartománya ND és 189,91 µg/g között volt. Hasonlóképpen a *F. cf. incarnatum* törzsek esetében nem tapasztaltunk TCTB toxinok termelődését. Az *F. sporotrichioides* izolátumokat (INVT\_024 és INVT\_026) A típusú trichotecén termelés szempontjából elemeztük; csak az INVT\_026 törzs termelt HT-2 és T-2 toxinokat. A HT-2 és T-2 toxinok szintje 0,96 µg/g és 6,78 µg/g volt.

11. táblázat: A kiválasztott *Fusarium* izolátumok mikotoxin-termelése 3 ismétlésben  $\mu\text{g/g}$ -ban kifejezve, a szórás értékek a táblázatban minden eredménynél feltüntetésre kerültek. (ND=nem detektált, NT=nem tesztelt).

Fajok	Izolátum kódja	FB, $\mu\text{g/g}$			TCTB, $\mu\text{g/g}$		TCTA, $\mu\text{g/g}$	
		FB <sub>1</sub>	FB <sub>2</sub>	FB <sub>3</sub>	DON	15-ADON	HT-2	T-2
<i>F. proliferatum</i>	INVT_021	903.4 ±358.5	165.8±8.5 6	49.0±36.2	NT	NT	NT	NT
	INVT_018	14130.85 ±19579.7 3	344.08±4 89.92	356.55±5 13.41	NT	NT	NT	NT
	INVT_022	623.40±5 18.21	477.72±4 13.73	532.5±46 1.32	NT	NT	NT	NT
	INVT_015	2082.46± 115.08	115.08±1 99.32	209.84±3 63.46	NT	NT	NT	NT
	INVT_020	ND	ND	ND	NT	NT	NT	NT
	INVT_023	ND	ND	ND	NT	NT	NT	NT
<i>F. verticillioides</i>	INVT_028	138.4±10 5.63	ND	ND	NT	NT	NT	NT
	INVT_033	147.47±3 7.37	ND	ND	NT	NT	NT	NT
	INVT_035	ND	ND	ND	NT	NT	NT	NT
	INVT_031	1.46±1.78	ND	ND	NT	NT	NT	NT
	INVT_034	177.38±3 06.53	ND	ND	NT	NT	NT	NT
<i>F. subglutinans</i>	INVT_027	18.31±5.3 2	ND	ND	NT	NT	NT	NT
<i>F. cf. incarnatum</i>	INVT_007	50.3±59.1 4	ND	1.57±2.72	ND	ND	NT	NT
	INVT_009	14.41±2.5 2	ND	ND	ND	ND	NT	NT
	INVT_008	ND	ND	ND	ND	ND	NT	NT
<i>F. graminearum</i>	INVT_011	NT	NT	NT	189.91±1 64.49	3891.49± 185.61	NT	NT
	INVT_012	NT	NT	NT	121.37±4 7.05	2209.87± 695.68	NT	NT
	INVT_010	NT	NT	NT	116.07±2 4.13	1879.92± 2000.85	NT	NT
	INVT_013	NT	NT	NT	ND	20.02±34. 67	NT	NT
<i>F. sporotrichioides</i>	INVT_024	NT	NT	NT	NT	NT	ND	ND
	INVT_026	NT	NT	NT	NT	NT	0.96±0.96	6.78±1.64

#### **5.4. Az *Aspergillus* izolátumok mikotoxin-termelésben szerepet játszó génjeinek azonosítási eredményei**

A gélelektroforézis során az azonosított 21 darab *Aspergillus* faj DNS-t vizsgáltuk az aflatoxin-termeléssel összefüggésbe hozható gének (*aflD*, *aflM*, *aflO*, *aflP*, *aflQ*, *aflR*, *aflS*) indítószekvenciáival. Az *Aspergillus* izolátumok között jelentős különbségeket tapasztaltunk a mikotoxin termelésben szerepet játszó gének vizsgálata során (12. táblázat). Az INVT\_A015 és INVT\_A013-as minták esetében kimutattuk valamennyi gén jelenlétét, azaz minden mikotoxin-termelést elősegítő génre pozitív eredményt kaptunk. Az *aflD* gén jelenlétét a 852 bp hosszúságú amplikon igazolta a gélelektroforézis során 12 darab *Aspergillus flavus* és 1 darab *A. oryzae* izolátum esetében (Melléklet – M5 - 61. és 62. ábra). Az *aflM* gén jelenlétét 470 bp hosszú célszekvencia igazolta 15 *A. flavus* és a 2 db *A. oryzae* DNS-e esetében (Melléklet – M5 - 63. és 64. ábra). Az *aflO* gén jelenlétét 19 *A. flavus* és 1 *A. oryzae* esetében detektáltuk (Melléklet – M5 - 65. és 66. ábra) a gélelektroforézis során 790 bp hosszú PCR termék igazolta a gén jelenlétét. Az *aflP* gén esetében 12 *A. flavus* és 1 *A. oryzae* esetében tapasztaltuk a gén jelenlétét 870 bp-nál (Melléklet – M5 - 67. és 68. ábra). Az *aflQ* aflatoxin-termeléssel összefüggésbe hozható gén jelenlétét az izolált gombák DNS-e esetében 9 darab *A. flavus* és 1 darab *A. oryzae* DNS-ében tapasztaltuk (Melléklet – M5 - 69. és 70. ábra). Az *aflR* gén jelenlétét a gélelektroforézis során 1079 bp-nál detektáltuk, amely 15 darab *A. flavus* és a 2 db *A. oryzae* minta esetében fordult elő (Melléklet – M5 - 71. és 72. ábra). Az *aflS* gén jelenléte 12 darab *A. flavus* és 2 db *A. oryzae* esetében volt detektálható 684 bázispárnál (Melléklet – M5 - 73. és 74. ábra).

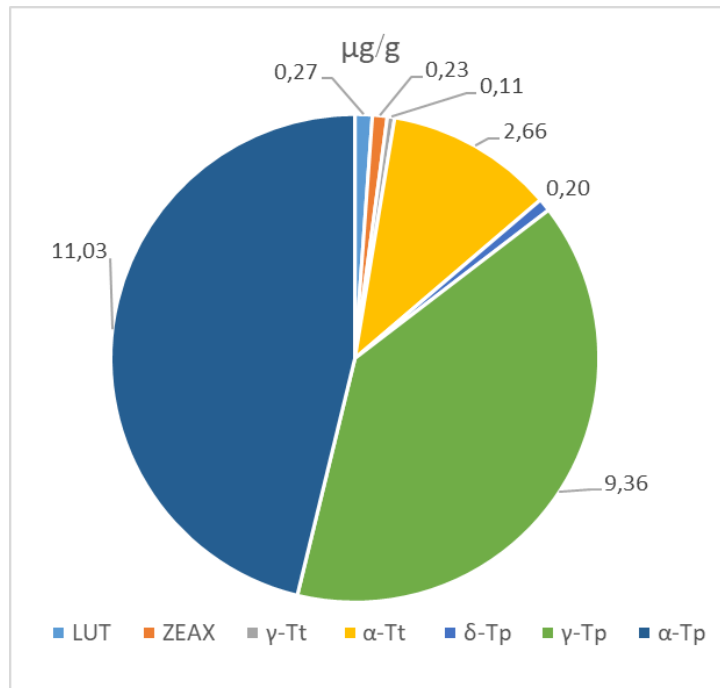
12. táblázat: Mikotoxin-termelésben szerepet játszó gének jelenléte *Aspergillus* izolátumokban. A táblázatban „+” -val és zölddel került jelölésre a pozitív eredmény, ahol a primer megsokszorozta a célszekvenciát, „-” -val került jelölésre, ahol a primer nem amplifikált a célszekvenciát.

N°	Tenyészet és DNS kódja	Származási hely és genotípus kódja	Faj	aflD	aflM	aflO	aflP	aflQ	aflR	aflS
1	INVT_A001	SL13	<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	+	+	+	-	-
2	INVT_A002	SL13	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	+	-	+	+
3	INVT_A003	SL8	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	+	-	+	+
4	INVT_A004	SL13	<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	+	-	-	-	-
5	INVT_A005	SN13	<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	+	+	+	-	-
6	INVT_A006	SL13	<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	+	-	-	-	-
7	INVT_A007	SL13	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	+	+	+	+
8	INVT_A008	S1	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	+	+	+	-
9	INVT_A009	S3	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	+	+	+	+
10	INVT_A010	S4	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	-	+	+	+
11	INVT_A011	SN13	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	-	-	+	+
12	INVT_A012	SL8	<i>Aspergillus flavus</i>	-	+	+	+	+	+	+
13	INVT_A013	SN1	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	+	-	+	+
14	INVT_A014	SL13	<i>Aspergillus oryzae</i>	+	+	-	-	-	+	+
15	INVT_A015	SL13	<i>Aspergillus flavus</i>	-	+	+	+	-	+	+
16	INVT_A016	SL4	<i>Aspergillus oryzae</i>	+	+	+	-	-	+	+
17	INVT_A017	SN9	<i>Aspergillus flavus</i>	-	+	+	-	-	+	-
18	INVT_A018	SL5	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	-	-	+	+
19	INVT_A019	SN13	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	+	+	+	+
20	INVT_A020	SN13	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	+	+	+	+
21	INVT_A023	SL12	<i>Aspergillus flavus</i>	-	+	+	+	+	+	-

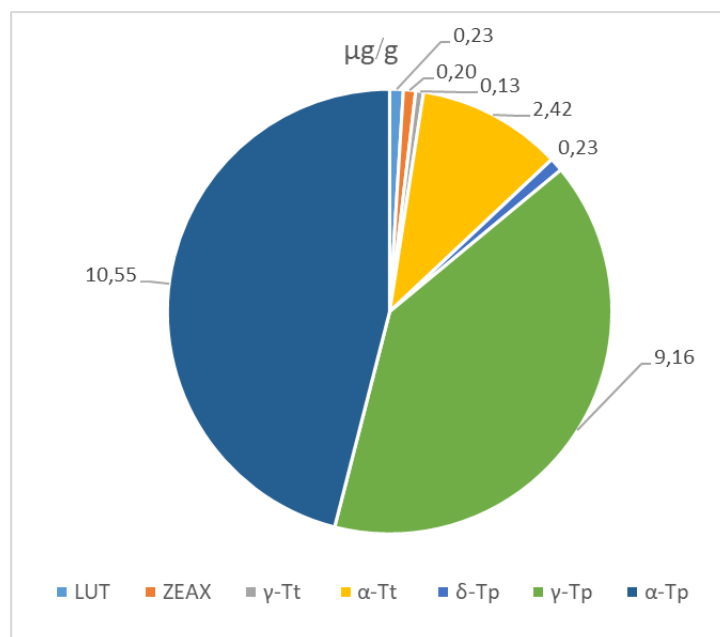
### 5.5. A szemes cirok minták tokoferol és antioxidáns összetétele

A cirok gabonamintáinkban talált fő karotinoid- és tokoferolvegyületek a lutein és a zeaxantin, a  $\gamma$ -tokotrienol, a  $\gamma$ -tokoferol, az  $\alpha$ -tokotrienol, az  $\alpha$ -tokoferol és a  $\delta$ -tokotrienol voltak. A karotinoidok és tokoferolok szintjét a vizsgált két különböző genotípusán (G1 és G2) mértük, amint az 32. és 33. ábrán látható. A tokokromanolok teljes mennyisége az 1-es és 2-es genotípusban 23,87  $\mu\text{g/g}$  és 23,35  $\mu\text{g/g}$  volt, amely alapján kijelenthető, hogy a cirok szemtermések lipofil antioxidáns összetétele a két genotípus esetében 97,87% és 98,6%. A karotinoidok teljes mennyisége az 1-es és 2-es genotípusban 0,51  $\mu\text{g/g}$  és 0,43  $\mu\text{g/g}$  volt, amelyek a két genotípus lipofil antioxidánsainak 2,13%-a, illetve 1,84%-a. A lutein és a zeaxantin aránya a két különböző genotípusban közel hasonló volt. Az 1-es genotípus esetében a lutein és a zeaxantin aránya 53,86% és 46,14% volt. A 2-es genotípusban a lutein és a zeaxantin aránya 52,55% és 47,45% volt. A két genotípus fő vegyületei az  $\alpha$ - és  $\gamma$ -tokoferol voltak. Az 1. genotípusban a lutein és a zeaxantin értékei 0,15  $\mu\text{g/g}$  és 0,54  $\mu\text{g/g}$ , illetve 0,15  $\mu\text{g/g}$  és 0,32  $\mu\text{g/g}$  között voltak. A 2-es genotípusban a lutein koncentrációja 0,11  $\mu\text{g/g}$  és 0,42  $\mu\text{g/g}$  között volt. Ez az intervallum 0,13  $\mu\text{g/g}$  és 0,33  $\mu\text{g/g}$  között volt a zeaxantin esetében. A 2-es genotípusban a  $\gamma$ -tokotrienol,  $\gamma$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokotrienol,  $\alpha$ -tokoferol és  $\delta$ -tokotrienol értéktartománya a nem kimutatott (ND) és

0,35 µg/g, 6,22 µg/g és 12,21 µg/g között 1,61 µg/g és 5,5 µg/g között, 9,17 µg/g és 14,09 µg/g között, illetve 0,12 µg/g és 0,19 µg/g között volt. A 2-es genotípusban a γ-tokotrienol, γ-tokoferol, α-tokotrienol, α-tokoferol és δ-tokotrienol értéktartománya ND és 0,34 µg/g, 6,14 µg/g és 12,71 µg/g, 1,94 µg/g és 3,22 µg/g, 9,23 µg/g és 12,75 µg/g továbbá 0,12 µg/g és 0,38 µg/g között detektáltuk.



32. ábra: Főbb lipofil antioxidánsok (tokoferolok (α és γ), tokotrienolok (α, γ és δ) és karotinoidok (zeaxantin és lutein) a 1-es genotípus esetében. Tokokromanolok és kortenoidok értékei µg/g-ban.

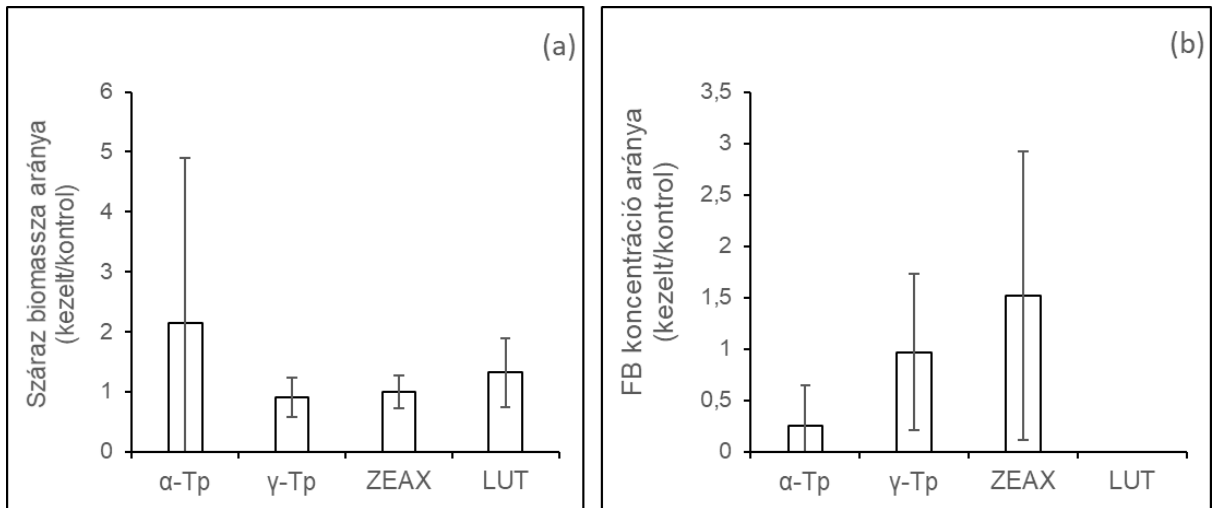


33. ábra: Főbb lipofil antioxidánsok (tokoferolok (α és γ), tokotrienolok (α, γ és δ) és karotinoidok (zeaxantin és lutein) a 2-es genotípus esetében. Tokokromanolok és kortenoidok értékei µg/g-ban.

## 5.6. Egyes lipofil antioxidánsok hatása a kiválasztott *Fusarium proliferatum* izolátum fumonizin termelésére

A lutein (0,1 mM), zeaxantin (0,1 mM),  $\gamma$ -tokoferol (0,1 mM) és  $\alpha$ -tokoferol (0,1 mM) száraz biomasszára gyakorolt hatását GAYEP folyékony tenyészetekben értékeltük, és a gombák micéliumát szárítottuk 80 °C-on 48 órán át. A kísérlet során a INVT\_018-as *F. proliferatum* izolátumot hasonlítottuk össze egy az INRAE gyűjteményből származó izolátummal (I58), ami magas toxinogén potenciállal rendelkezik. Az INVT\_018-as törzs esetében háromszori kísérlet ismétlésre sem kaptunk értékelhető eredményt, mivel a három ismétlésben végzett kísérletek során a termelt toxin mennyiségeinél nem elemezhető, kicsi szórás különbségeket kaptunk. Ezért a továbbiakban csak az I58-as törzsszel végzett eredményeket részletezzük. A zeaxantin esetében nem volt statisztikailag szignifikáns hatás a tenyészetek száraz biomasszájára. Az INRAE 58 törzs száraz biomasszája 31,40%-kal nőtt a lutein hatására. A zeaxantin nem gyakorolt hatást a száraz biomasszára, az  $\alpha$ -tokoferol esetében viszont 113,95%-kal nőtt a száraz biomassza mennyisége. A statisztikai tesztekre vonatkozó táblázatok az M6-os melléklet 23-26. táblázatokban láthatóak.

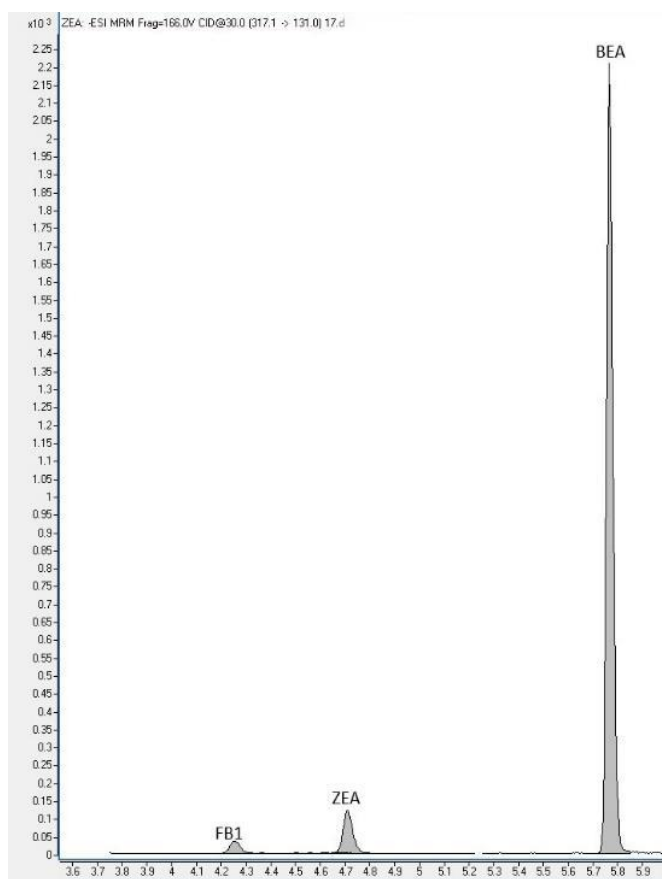
A lutein (0,1 mM), zeaxantin (0,1 mM),  $\gamma$ -tokoferol (0,1 mM) és  $\alpha$ -tokoferol (0,1 mM) fumonizin bioszintézisre gyakorolt hatását GAYEP folyékony tenyészetekben értékeltük, az INRAE kollekciónakból származó *F. proliferatum* egy izolátumát használva (I58), amely magas toxinogén potenciáljáról ismert melynek értékelése során a következőket tapasztaltuk (34. ábra). A zeaxantin esetében nem volt statisztikailag szignifikáns hatás a fumonizinek bioszintézisére. A fent említett karotinoid összetétellel kiegészítve csökkenést állapítottunk meg az INRA 58 törzs fumonizin termelésében továbbá a lutein is csökkentette a fumonizin felhalmozódást, hiszen csak fumonizin részecskéket detektáltunk a toxinvizsgálatok során. Azonban a vizsgált antioxidánsok hatásait tekintve egy esetben sem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni. Az  $\alpha$ -tokoferol (0,1 mM) esetében a törzs fumonizin termelése 74,57% volt és a  $\gamma$ -tokoferol hatása a fumonizin bioszintézisére 3,34% volt. A száraz biomasszára gyakorolt hatás esetében a biomassza mennyiségét csökkentette a  $\gamma$ -tokoferol és az  $\alpha$ -tokoferol, továbbá a lutein is, azonban ebben az esetben sem tudtunk kimutatni szignifikáns különbséget (34. ábra). A statisztikai háttér adatok az M6-os melléklet 27-30. táblázatokban érhetőek el.



34. ábra: A  $\gamma$ -tokoferol (GT),  $\alpha$ -tokoferol (AT), zeaxantin (ZEAX) és lutein (LUT) hatása a gombák növekedésére száraz biomassa esetében (a). A  $\gamma$ -tokoferol (GT),  $\alpha$ -tokoferol (AT), zeaxantin (ZEAX) és lutein (LUT) 0,1 mM koncentrációban az I58 törzs fumonizinekre (FB1, FB2, FB3) mikotoxin bioszintézisére gyakorolt hatása (b). Az antioxidáns szintet 0,1 mM-ra állítottuk be. A kontrollminták oldószerként metanolt tartalmaztak. Az értékeket átlagban, standard deviációban fejezzük ki három biológiai ismétlés segítségével.

### 5.7. A szemes cirok minták mikotoxin-szennyezettségének vizsgálati eredményei

A cirokszemek multimikotoxin-analízisének során a DON és T2 toxinok nem voltak kimutathatók a mintákban. A minták 40%-ában beauvericint (BEA) detektáltunk. A BEA értéktartománya a nem észlelt (ND) és 123,7 ng/g között volt. A cirok szemtermékekben a BEA-szennyezettség átlagos értéke 17,9 ng/g volt. A fumonizin B1 mindössze 5 mintában (S1, S2, S4, SL11, SN5) volt kimutatható ND és 450,5 ng/g közötti értéktartományban, és az 5 mintában az átlagos szennyezettség 115,0 ng/g volt. HT-2 és ZEA toxin szennyeződést 2 mintában mutattunk ki a szemtermésből, ahol az értékek ND és 42,4 ng/g között voltak 25,7 ng/g átlaggal és ND és 302,6 ng/g között és 25,7 ng/g és 97,6 ng/g átlaggal. Az S1 mintában mind a 4 detektált toxin jelen volt (13. táblázat, 36. ábra). Az S4-es minta kromatogramja és a retenciós csúcsok az egyes toxinok esetében az 35. ábrán láthatók. A retenciós csúcsok jelölik a maximális koncentrációt és annak megjelenésének idejét a folyadékkromatográfiai eljárás során.



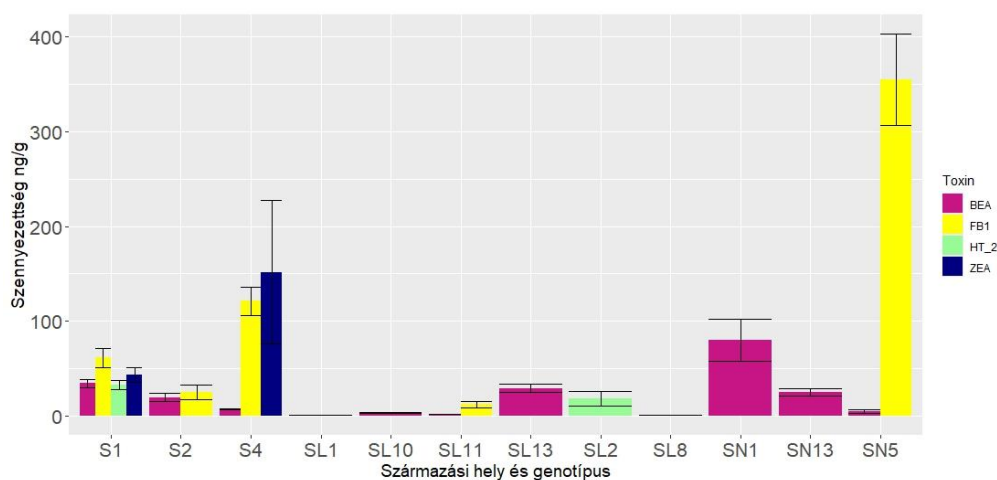
35. ábra: A S4 minta mennyiségi tömegátalakulásának teljes ionkromatogramja.



13. táblázat: A szemes cirok minták mikotoxin-szennyezettségének átlaga. Az értékeket átlagban, standard deviációban fejezzük ki három biológiai ismétlés segítségével. A táblázat tartalmazza az összes kísérletbe vont szemes cirok mintát. (ND=nem detektált).

Szármaszási hely és genotípus	BEA ng/g			FB1 ng/g			HT-2 ng/g			ZEA ng/g		
	Md	±	SD	Md	±	SD	Md	±	SD	Md	±	SD
S1	34,57	±	7,78	61,48	±	17,61	33,06	±	8,59	43,64	±	13,32
SL13	29,13	±	7,25	ND			ND			ND		
S2	19,47	±	7,27	25,23	±	13,82	ND			ND		
S3	7,01	±	1,02	ND			ND			ND		
SN13	25,14	±	6,03	ND			ND			ND		
S4	7,73	±	1,84	121,13	±	25,57	ND			151,47	±	131,12
SL1	0,88	±	0,15	ND			ND			ND		
SN1	80,13	±	38,66	ND			ND			ND		
SL9	ND			ND			ND			ND		
SN9	ND			ND			ND			ND		
SN11	ND			ND			ND			ND		
SL11	1,87	±	0,15	12,19	±	5,7	ND			ND		
SN12	ND			ND			ND			ND		
SL12	ND			ND			ND			ND		
SN10	ND			ND			ND			ND		
SL10	3,1	±	0,7	ND			ND			ND		
SN7	ND			ND			ND			ND		
SL7	ND			ND			ND			ND		
SN4	ND			ND			ND			ND		
SL4	ND			ND			ND			ND		
SL5	ND			ND			ND			ND		
SN5	5,07	±	2,92	354,79	±	83,97	ND			ND		
SN2	ND			ND			ND			ND		
SL2	ND			ND			18,24	±	13,16	ND		
SN3	ND			ND			ND			ND		
SL3	ND			ND			ND			ND		
SN8	ND			ND			ND			ND		
SL8	0,83	±	0,12	ND			ND			ND		
SN6	ND			ND			ND			ND		
SL6	ND			ND			ND			ND		

12



36. ábra: A detektált mikotoxin-szennyezettség mértékének átlaga az egyes mintákban. Az értékeket átlagban, standard deviációban fejeztük ki három biológiai ismétlés segítségével.

## 6. Következtetések és javaslatok

### 6.1. A szemtermékek belső fertőzöttségének vizsgálata

A cirok alapú élelmiszerek térnyerése ellenére Magyarországi viszonylatban kevés kutatási eredmény áll rendelkezésünkre a szemes cirok szemterméséből izolált mikotoxin-termelő gombákról és azok toxinogén tulajdonságairól. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a szemes cirok terméséből izolált *Fusarium* fajok jelenléte világszerte gyakori (Zummo 1984; Summerell et al. 2003; Little et al. 2011; Astoreca et al. 2019). A szemes cirokkal végzett vizsgálataink eredményeképpen elmondható, hogy a minták nagy részében kimutattunk valamilyen mikotoxin-termelésre is képes gomba által okozott belső fertőzöttséget. A szemekből izolált gombák tiszta tenyészeinek vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy a szemes cirok esetében az *Fusarium* fajok voltak a dominánsak, mint belső szemfertőzöttséget okozó fajok, azonban minden minta esetében jelentek meg *Aspergillus* és *Penicillium* fajok is. Kange és munkatársai (2015) eredményei is azt igazolják, hogy ez a 3 mikotoxin-termelésre képes nemzetség – *Aspergillus*, *Penicillium* és *Fusarium* - megjelenhet a cirok szemtermésekben, azaz belső fertőzöttséget okozhatnak a terményben. Továbbá a belső fertőzöttségi vizsgálatok során *Alternaria* fajokat is detektáltunk, azonban kutatásaink erre a nemzetségre nem terjedtek ki, így az eredmények során sem kerültek részletezésre. Az egyes *Fusarium* fajok bejutását a szemtermésbe az ún. penetrációs hifa is segítheti, továbbá a *F. graminearum* faj esetében 24 különböző sejtfalbontó enzimet különböztetnek meg, melyek közül a kutináz, lipázok és a pektinázok játszik a fő szerepet a szemtermések fertőzése során (Kikot et al. 2009). A belső szemfertőzöttséget azonban egyes környezeti paraméterek is befolyásolhatják, mint például a termesztés technológia, biotikus tényezők, elővetemény. A 2022-es termesztési év extrém aszályos időjárási viszonyai is közrejátszhattak a szemtermések belső fertőzöttségi értékeinek alakulásában.

### 6.2. Az izolált és azonosított mikotoxin-termelő gombák

Molekuláris genetikai vizsgálataink során 170 db *Fusarium* monospóras tenyészetet készítettünk, amelyből 145 db *Fusarium* izolátumot azonosítottunk faj szinten. Hazai termesztési körülmények között ezidáig csak a *F. verticillioides* fajt azonosították a cirok szárából (Szécsi et al. 2010). Jelen kísérletünkben sokkal szélesebb körű információt szolgáltatunk erről az élelmiszer biztonsági szempontból is fontos kórokozóról cirok esetében. A cirok szemtermésén a kísérleteink alapján hazánkban a *F. proliferatum* a leggyakrabban előforduló *Fusarium* faj. Ezt követte a *F. sporotrichioides*, *F. verticillioides*, *F. graminearum*, *F. thapsinum*, *F. cf. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. avenaceum* és *F. subglutinans*. Az azonosított *Fusarium* fajok közül az *F. thapsinum*, *F. cf. incarnatum* és az *F. equiseti* olyan fajok, amelyeket Magyarországon termesztett gabona szemterméséből ezidáig még nem mutattak ki. Az egyes *Fusarium* fajok dominancia

viszonyai szempontjából, mint a dolgozat eredményei is alátámasztják a *F. proliferatum* faj domináns, azaz a *F. fujikuroi* betegségkomplex egyik tagja. Hazai kukorica termesztés esetében nagyrészt *F. verticillioides* és *F. graminearum* fajok, búza esetében pedig a *F. graminearum*, *F. poae*, *F. avenaceum* fajok dominálnak, azonban az elmúlt 2-3 évben ezzel kapcsolatban nem rendelkezünk friss kutatási adatokkal, ezért feltételezhető ezen dominancia viszonyok változása is. Az összes azonosított fajt világszerte azonosították cirok szemterméséből, azonban cirok szemtermés esetében az *F. andiyazi* fajt is azonosították, amelyet kísérleteink során mi nem detektáltunk (Bottalico és Perrone, 2002; Chala et al. 2019; Prom et al. 2021; Ferrigo et al. 2022; Corallo et al. 2023). Eredményeink összhangban állnak korábbi szemes cirokhoz kapcsolódó, külföldön született kutatási adatokkal (Sharma et al. 2011; Kelly et al. 2016).

Általános konszenzus van abban, hogy a cirokban azonosított *Fusarium* fajok főként a *Fusarium fujikuroi* fajkomplexhez tartoznak (Leslie et al. 2005). A nemzetség tagjai a szemes cirok szemterméseinek potenciális kórokozói (Das et al. 2012). Ahogyan korábban számos szakirodalomban beszámoltak róla, a cirokszemekben előforduló fő *Fusarium* fajok a *F. verticillioides*, *F. acutatum*, *F. andiyazi*, *F. thapsinum*, *F. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. fujikuroi*, *F. subglutinans* és *F. proliferatum* (Leslie et al. 1990; Vismer et al. 2019; Chala et al. 2019; Corallo et al. 2023). Magyarországon kukoricából, rizsből és búzából izoláltak számos fajt, mint például a *F. proliferatum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. poae* és *F. sporotrichioides* (Koncz et al. 2008).

Az *Aspergillus* fajok izolálása során 23 db tiszta tenyészetet hoztunk létre, melyből a molekuláris genetikai vizsgálatok során 19 db *A. flavus* és 2 db *A. oryzae* azonosítottunk. Mindkét azonosított faj a *Flavi* szekcióba tartozik, mely szekció kiemelten fontos a mezőgazdaság, biotechnológia, humán- és állategészségügy szempontjából (Frisvad et al. 2018). Az *A. flavus* a mezőgazdasági növényeken gyakran előforduló faj, amelyet sok esetben a világ számos pontjáról izolálnak, továbbá aflatoxin-termelő képességük révén kiemelt veszélyt jelentenek az élelmezés és takarmányozás során (Palencia et al. 2010; Riba et al. 2010). Az *A. oryzae* fajt is számos esetben izolálták, azonban nem aflatoxinogén tulajdonságainak köszönhetően jelenléte biztonságosnak tekinthető. Továbbá a fermentációs ipar mai napig alkalmazza a fajt különböző erjesztési eljárásokhoz (Chang és Ehrlich 2010). Hazai körülmények között is számos esetben történt a *A. flavus* faj azonosítása kukorica szemterméséből (Tóth et al. 2012; Dobolyi et al. 2013; Baranyi et al. 2015; Sebők et al. 2016). Egy 2012-es EFSA tudományos közlemény felhívta a figyelmet az *Aspergillus* fajok egyre nagyobb számú megjelenésére az extrém aszályos időjárás következményeképpen egyes gabonák szemterméseiben (Battilani et al. 2012). A jelentésben közölt scenáriók napjainkban valósággá válnak, mivel kutatási eredményeink is azt igazolják,

hogy az *Aspergillus* fajok térnyerése egyre nagyobb, amely az élelmiszer- és takarmányláncra nézve különböző veszélyeket hordoznak magukban az aflatoxin szennyezettségnek köszönhetően.

A *Penicillium* fajok molekuláris genetikai vizsgálatait megelőzően 60 darab tiszta tenyészetet hoztunk létre, melyek azonosítása során a következő fajokat azonosítottuk: *P. rubens*, *P. chrysogenum*, *P. polonicum*, *P. hordei*, *P. crustosum*, *P. allii.*, *P. rubens* és *P. chrysogenum* fajt számos esetben hazai körülmények között is izolálták kukorica szemtermésről, továbbá egyes gyümölcsök esetében ehhez kapcsolódóan a *P. chrysogenum* antifungális proteinjének vizsgálatait is elvégezték. A PAF (*Penicillium* Antifungal Protein) hatással lehet fonalas gombákra, élesztőgombákra és baktériumokra is. A PAF egy gombaellenes fehérje, amely ROS-közvetített apoptotikus sejthalált vált ki *Fusarium* és *Aspergillus* fajok esetében (Galgóczy et al. 2013; Kovács et al. 2014). Ezen tények ismeretében valószínűsíthető, hogy azon származási helyekről (SN10, SL10, SL6) amelyek szemterméseiről a *P. chrysogenum* fajokat izoláltuk sokkal kisebb számban voltak jelen az *Aspergillus* és *Fusarium* fajok (Delgado et al. 2015; Martínez-Culebras et al. 2021). A fajokat számos esetben izolálták cirok szemterméséből világszerte is (Gupta 1996; Vankudoth et al. 2015).

### **6.3. Az azonosított *Fusarium* fajok makro- és mikromorfológiai vizsgálata**

Az azonosított 9 *Fusarium* faj esetében a makro- és mikromorfológiai vizsgálatok során megállapítottuk, hogy az általunk kimutatott és azonosított fajok az adott fajra jellegzetes tulajdonságokkal rendelkeznek (Leslie és Summerell 2006). A *F. avenaceum* faj esetében a micéliumok nem képeztek pigmenteket, továbbá makrokonídiumokat nem termelt a tenyészet, ennek oka a sporodochiumok hiánya lehet, mivel a faj itt képes makrokonídiumok termelésére. Azonban a mikrokonídiumok kis számban jelen voltak, ahogy azt számos szakirodalom is alátámasztotta (Leslie és Summerell 2006, Crous et al. 2021). A *F. sporotrichioides* esetében is tipikus fajra jellemző telep tulajdonságokat tapasztaltunk, azonban ez a faj sem hozta létre a makrokonídiumokat, amelynek szintén a sporodochiumok hiánya lehet az oka (Leslie és Summerell 2006). A mikrokonídiumokat nagyobb számban termelte, amely a légmicéliumok megjelenésének lehet az oka, hiszen a légmicéliumokon a mikrokonídiumokat nagy számban hozza létre a faj. A *F. graminearum* esetében is tipikus telep jellemzőkkel találkoztunk, azonban mikrokonídiumokat nem termeltek a tenyészeteink. A makrokonídiumok kis számban megjelentek, amelyek tulajdonságai megfelelnek az irodalomban leírtaknak (Leslie és Summerell 2006). A *F. cf. incarnatum* és *F. equiseti* két külön kládba, azonban egy fajkomplexbe tartozó gombafajok, amelyeknek telep jellemzői rendkívül hasonlóak. Azonban a *F. cf. incarnatum* esetében csak mikrokonídiumok jelenlétét tapasztaltuk a vizsgálataink során, míg az *F. equiseti* esetében csak makrokonídiumok megjelenését tapasztaltuk, amely megegyezik a The Fusarium

Laboratory Manual-ban foglaltaknak (Leslie és Summerell 2006). Az *F. proliferatum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans* és *F. thapsinum* szintén egy fajkomplexbe tartozó fajok, ezért rendkívül hasonló tulajdonságokkal rendelkeznek mind makro-, mind mikromorfológiai értelemben. A fajkomplexbe tartozó fajok tipikus ciklámenes lilás pigmentáltságot mutatnak, abban az esetben, ha termelnek pigmenteket. Számos esetben makrokonídiumaik nem detektálhatóak, azonban mikrokonídiumokat már a fiatal tenyészetek is nagy számban képeznek. Makrokonídiumok képződését csak az *F. subglutinans* faj esetében tapasztaltuk (Leslie és Summerell 2006; Corus et al. 2021).

#### **6.4. A vizsgált *Fusarium* fajok mikotoxin-termelőképesége**

A *Fusarium* fajokról köztudott, hogy különböző mikotoxinokat termelnek. A mikotoxin-termelés mértéke azonban a fajok között és fajon belül is változhat (Crous et al. 2021). A fumonizinek (FB-k) a *F. verticillioides* által termelt fő mikotoxinok. Az azonosított *F. verticillioides* fajok az INVT\_035 izolátum kivételével képesek FB1 toxin termelésére. Korábban kimutatták, hogy az *F. proliferatum* fajok különböző mennyiségű FB1, FB2 és FB3 toxint képesek termelni (Corallo et al. 2023), amelyeket különböző genotípusú cirokokból izoláltak. Emellett a *F. proliferatum* izolátumok jelentős része képes az erősen toxikus fumonizinek termelésére (Sharma et al. 2011; Vismer et al. 2019; Corallo et al. 2023). Az általunk azonosított *F. proliferatum* INVT\_018 jelű izolátuma bizonyult a legmagasabb FB1, FB2 és FB3 termelőnek. A *F. subglutinans* fumonizin termeléséről szóló kutatási eredmények eltérőek, néhány esetben tapasztaltak fumonizin termelést a *F. subglutinans* faj esetében is (Stępień et al. 2013; Wang et al. 2014b; Fumero et al. 2015). A szakirodalom szerint a *F. subglutinans* törzsből hiányoznak a fumonizin bioszintéziséhez szükséges *Fum* gének (Fumero et al. 2020). A vizsgálatunkban azonosított *F. subglutinans* faj kis mennyiségű FB1 toxint volt képes szintetizálni, kísérleteink során valószínűsíthetőleg a vizsgált izolátum rendelkezett *Fum* génnel, ezért termelhetett kis mennyiségű mikotoxint.

*F. cf. incarnatum* a *Fusarium incarnatum-equiseti* fajkomplex (FIESC) egyik tagja, amely képes fumonizineket és B típusú trichotecéneket is termelni (Villani et al. 2016; Villani et al. 2019). Kutatásaink során az azonosított és kiválasztott *F. cf. incarnatum* izolátumok (INVT\_007, INVT\_008, INVT\_009) mikotoxinogén potenciálját vizsgáltuk fumonizinekre és TCTB toxinokra is. Vizsgálatunkban az izolált *F. cf. incarnatum* INVT\_007-es izolátum kis mennyiségű FB1 és FB3 toxin termelésére képes, az INVT\_009-es izolátum csak FB1-et termelt; és az INVT\_008 törzs egyáltalán nem termelte a fent megnevezett és vizsgálatba vont toxinok egyikét sem. A *F. cf. incarnatum* rendelkezik különböző szabályozó génekkel, amelyek a B típusú trichotecének termelődéséért felelnek, mint például a *tri5*, *tri4*, *tri13* és *tri7* gének, továbbá rendelkezik a

fumonizin termelésért felelős génekkel is, mint a *tri3* és *tri11*, fontos kiemelni, hogy a *tri4* és *tri5* gének a fumonizin bioszintézisben is részt vesznek (Desjardins 2006).

Corallo és mtsai. (2023) szemes cirok szemterméséből azonosított *F. graminearum* izolátumai nagyrészt zearalenon (ZEA) és deoxinivalenol (DON) toxinokat, illetve néhány esetben nivalenolt (NIV) is termelt. A szakirodalommal ellentétben a kiválasztott *F. graminearum* izolátumaink, különösen az INVT\_010, INVT\_011 és INVT\_012 izolátumok, nagy mennyiségű 15ADON és DON toxint termeltek, azonban kísérleteink során nem tapasztaltuk ZEA szintézisét az adott izolátumoknak, amely feltételezhetően a *zeb1* gén hiányát jelezheti (Alexander et al. 2009) továbbá a *Fusarium* fajok mikotoxin termelését számos más tényező is befolyásolhatja, mint például a környezeti tényezők, mint a nedvesség és magas hőmérséklet. A 2021-es év csapadékosabb év volt, amely befolyásolhatta az izolált kórokozók mikotoxin-termelő képességét.

Edwards és mtsai. (2012) szerint a *F. sporotrichioides* jellemzően A típusú trichotecéneket (TCTA), például HT-2 és T-2 toxinokat termel, ezzel párhuzamosan az általunk azonosított *F. sporotrichioides* izolátum (INVT\_026) képes HT-2 és T-2 toxin termelésére is; azonban az INVT\_024 törzs nem termelt TCTA toxinokat.

A potenciális mikotoxin-termelés problémákat okozhat mind az élelmiszer-, mind pedig a takarmányláncban. A megnevezett okok miatt különös figyelmet szükséges fordítani a bugapeneszedést (FGM) okozó *Fusarium* fajokra.

### **6.5. Az izolált *Aspergillus* fajok aflatoxin-termeléssel összefüggésbe hozható génjeinek vizsgálata**

A Yu és munkatársai (2004), Degola és munkatársai (2007), valamint a Gallo és munkatársai (2012) által végzett kísérletekben különböző gének aflatoxin termeléssel való összefüggését vizsgálták. Kísérleteinkben a kutatásaik alapján, aflatoxin termelés szempontjából, legfontosabb gének jelenlétét kutattuk Gallo és munkatársai által végzett 2012-es kísérletben az *aflQ* gént a nem aflatoxinogén izolátumok esetében tudták nagy számban kimutatni. Az *AflQ* gént az általunk vizsgált minták esetében 10 alkalommal amplifikáltuk, ez arra enged következtetni, hogy a 10 darab *Aspergillus* faj feltehetően inkább a Gallo és mtsai 2012-es kutatásában leírt nem aflatoxinogénnek tartott csoportba tartozik. Mivel azonban egyetlen gén jelenléte vagy hiánya nem határozza megegyértelműen a mikotoxin-termelő képességet, így fontos a többi vizsgált gén eredményeinek értékelése is.

Az *aflR* és *aflS* gének esetében bizonyították legtöbbször a gének jelenlétének és az aflatoxin-termelőképeség szoros korrelációját (Degola et al. 2007; Gallo et al. 2012). Így a saját mintáink esetében ezen gének jelenléte valószínűsíti az aflatoxin termelőképeséget. Kísérleteink során 14

minta esetében amplifikáltuk az *aflS* gént. Az *aflR* gént 17 minta esetében tapasztaltuk. Degola és mtsai 2007-es kísérletében nagy biztonsággal jelezte az aflatoxin termelőképeséget ezen gének jelenlétének esetében. Ezért az izolátumok esetében valószínűsíthető, hogy azok aflatoxin termelésre képes *Aspergillus* fajok. Mindezekén túl fontos kiemelni, hogy az említett gének azonosítása az egyes mintákban nem jelent egyértelmű aflatoxin termelőképeséget, csupán valószínűsíti ezt a képességet, mivel Gallo és mtsai (2012) is csak a vizsgált gének együttes jelenléte esetén detektáltak aflatoxin-termelést 2012-es kísérletük során. Kísérleteink során a gének együttes jelenlétét tapasztaltuk az INVT\_A002, INVT\_A003, INVT\_A010, INVT\_A013, INVT\_A014, INVT\_A015-ös minták esetében.

#### **6.6. A lipofil antioxidánsok hatásai az egyes *Fusarium* fajok mikotoxin-termelésére**

A lipofil antioxidánsok koncentrációját a két különböző szemes cirok minták esetében vizsgáltuk. A cirok genotípusok antioxidáns koncentrációjának vizsgálata során kiderült, hogy a cirok szemtermés mintáinkban található fő karotinoid és tokoferol vegyületek a lutein és zeaxantin,  $\gamma$ -tokotrienol,  $\gamma$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokotrienol,  $\alpha$ -tokoferol és  $\delta$ -tokotrienol. A cirokszemekben a tokoferolok fő összetétele a  $\gamma$ -tokoferol és az  $\alpha$ -tokoferol; karotinoidokból luteint és zeaxantint tartalmaz. Számos tanulmány bizonyítja, hogy a cirok karotinoidokat és tokokromanolokat (tokoferolokat és tokotrienolokat) tartalmaz (Shahidi és Costa de Camargo 2016; Elvira-Torales et al. 2019). A szemes cirok mintákban lévő karotinoidok és tokokromanolok összetételére vonatkozó ismeretek azonban továbbra is korlátozottak, és az eredmények többnyire a félszáraz területeken termesztett cirokfajtákhoz kapcsolódnak (Kean et al. 2007; de Morais Cardoso et al. 2015; Mawouma et al. 2022). Tudomásunk szerint az európai országokban termesztett cirokról kevés ilyen információval rendelkezünk. A fent említett vizsgálatok azt mutatták, hogy a xantofilok (lutein és zeaxantin) és a tokoferolok voltak a domináns vegyületek a karotinoid és a tokokromanol családon belül.

A  $\gamma$ -tokoferolt, az  $\alpha$ -tokoferolt, a luteint és a zeaxantint 0,1 mM koncentrációban vizsgáltuk a *F. proliferatum* I58 törzs fumonizin termelésére és száraz biomasszájára gyakorolt hatásért. A lipofil antioxidánsok hatása az antioxidáns típusától függött. Ebben a vizsgálatban 0,1 mM lutein csökkentette az I58 törzs fumonizin termelését. Más tanulmányok az  $\alpha$ -tokoferol, a lutein, a zeaxantin, a  $\beta$ -karotin és a ferulinsav hatását vizsgálták a *F. verticillioides* fumonizin termelésére és a száraz biomasszára gyakorolt hatásával együtt (Picot et al. 2013). Ebben a vizsgálatban a lutein jelentősen csökkentette a fumonizin felhalmozódását. A 0,1 mM luteinnel kezelt INRA 58 izolátum száraz biomasszája 31,40%-kal nőtt vizsgálataink során. A zeaxantinnek nem volt hatása a száraz biomasszára; ezzel szemben az  $\alpha$ -tokoferol esetében 113,95%-kal nőtt a száraz biomassza mennyisége, a száraz gomba biomasszájának növekedése a mikotoxin szennyezettség

növekedésével is járhat. Vizsgálataink során az antioxidánsok fumonizin bioszintézisre gyakorolt hatása esetében szignifikáns különbségeket nem tudtunk kimutatni. Mindazonáltal, amint Savignac és munkatársai (2022, 2023) részletezik, erős érvek szólnak amellett, hogy ezek a vegyületek potenciálisan kulcsfontosságú szerepet játszanak a növényvédelemben figyelembe véve a ROS által kiváltott oxidatív stressz enyhítésére való képességüket, a növényi hormonok jelátvitelét zavaró képességüket, valamint a gombák növekedését és a mikotoxin szennyezettséget csökkentő képességüket. Az  $\alpha$ - és  $\gamma$ - tokoferol, valamint a lutein és a zeaxantin *F. proliferatum* elleni bioaktivitásának értékelése során a *Fusarium* fajoktól és a lipofil antioxidánsoktól függetlenül nem észleltünk gomba növekedési gátlást. Emellett az FB-hozam csökkenése csak a lutein esetében volt megfigyelhető. A lutein FB bioszintézisének gátló hatásáról már korábban is beszámoltak (Picot et al. 2013). Ez a gátló hatás összefüggésbe hozható a lutein és a zeaxantin oxidatív stressz enyhítő képességével, amelyről kimutatták, hogy serkentik a különböző mikotoxinok bioszintézisét (Montibus et al. 2015). A szintén erős antioxidáns vegyületekként elismert tokokromanolok hatásának hiánya (Elvira-Torales et al. 2019) azonban egyértelműen a karotinoidok bioaktivitásának háttérében álló további mechanizmusok előfordulását jelzi.

#### **6.7. A szemes cirok minták mikotoxin-szennyezettségének vizsgálata**

A *Fusarium equiseti-incarnatum* fajkomplexum tagjai a cirokminták kapcsán megjelentek adatainkban, amelyek a cirokminták 40%-a ( $n = 11$ ) volt beauvericinnel (BEA) szennyezett. A BEA-t termelő *Fusarium* fajok a következők: *F. sambucinum*, *F. acuminatum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. equiseti*, *F. avenaceum* (Munkvold et al. 1998). Mindazonáltal korábbi tanulmányok arról számoltak be, hogy a *F. proliferatum* és a *F. subglutinans* is képes BEA-t termelni (Logrieco et al. 1993; Plattner et al. 1994; Moretti et al. 1996). A BEA a mikotoxinok „új” csoportjába, az úgynevezett feltörekvő („emerging”) mikotoxinok közé tartozik. Néhány mintában fumonizin B1, HT-2 és zearalenon szennyeződést mutattunk ki. A minták 17%-a ( $n = 5$ ) volt FB1 toxinnal szennyezett, ahol a legmagasabb érték 354,8 ng/g volt. A ZEA okozta szennyeződés gyakran együtt fordul elő deoxinivalenol (DON) szennyeződéssel; ebben a vizsgálatban azonban nem mutattunk ki DON-nal való szennyeződést. A cirokszemek mikotoxin-szennyezettsége a gabonafélékben nem éri el a szabályozási szintet, bár a cirokszemekkel és a cirok alapú élelmiszerekkel és takarmányokkal kapcsolatban nincs megfelelő szabályozás; továbbá nincs szabályozás az élelmiszer- és takarmányláncban előforduló beauvericin-szennyeződéssel kapcsolatban (EC 2006/1881) azonban ezen szabályozások módosítása rendkívül fontos lenne a feltörekvő mikotoxinokra, továbbá az „új hullámos” gabonákra vonatkozólag – mint például a szemes cirok, alakor, köles, hajdina - a már meglévő kutatási eredményekre alapozva. A *Fusarium* fajok jelenléte a cirokszemekben óriási kockázatot jelent az élelmiszer- és takarmánybiztonságra



a jelen fajok mikotoxinogén potenciálja miatt. A HT-2 és T-2 toxinok szennyezettségével kapcsolatban az Európai Bizottság indikatív határértéket határoz meg (EU 2013/165).

Adataink elsőként nyújtanak betekintést a *Fusarium* fajok azonosításába szemes cirok esetében Magyarországon. Eredményeink rávilágítottak a cirok szemek lipofil antioxidáns összetételére és arra, hogy képesek gátolni a *F. proliferatum* fumonizin bioszintézisét. A *Fusarium* fajok megbízható azonosítása és mikotoxin-termelő képességük meghatározása fontos a növénybetegségek kezelése, valamint az élelmiszer- és takarmánybiztonság szempontjából. Továbbá validált LC-MS/MS módszert alkalmaztunk a mikotoxinok koncentrációjának meghatározására a mintákban. Adataink segíthetnek a kis területen termesztett gabonafélék mikotoxin szennyezettségének felmérésben, ami hozzásegíthet majd a jövőben a szabályozások ésszerű kialakításában. Ezen túlmenően a nemesítők számára is segítséget nyújthat a *Fusarium* fajok variabilitásának és a fumonizin-szennyeződésre kevésbé érzékeny cirokvonalak kiválasztásának fejlett ismereteinek átadásával.

## 7. Új tudományos eredmények

1. Hazai termesztési területekről származó szemes cirok szemterméseken bizonyítottuk a mikotoxin termelésre is képes penészgombák jelenlétét szelektív táptalajt használva, laboratóriumi körülmények között, amelynek során molekuláris genetikai módszerekkel azonosítottunk és génbankban deponáltunk:
  - i. kilenc *Fusarium* fajt: *F. proliferatum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. cf. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. thapsinum*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*,
  - ii. két *Aspergillus* fajt: *A. flavus*, *A. oryzae*,
  - iii. hat *Penicillium* fajt: *P. chrysogenum*, *P. rubens*, *P. allii*, *P. hordei*, *P. polonicum* és *P. crustosum*.
2. A szemes cirok szemtermésekről elsőként izoláltuk hazánkban a *F. cf. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. thapsinum* kórokozókat, amit molekuláris genetikai módszerrel is alátámasztottunk. Az említett *Fusarium* fajokat más gabonanövényekről sem azonosították még hazánkban.
3. Megállapítottuk, hogy hazánkban a *F. proliferatum* faj a domináns *Fusarium* faj a termesztett szemes cirok szemterméseiben.
4. Megállapítottuk, hogy a magyarországi termőhelyről izolált *Fusarium* fajok a cirok szemtermésben is képesek A és B típusú trichotecének és fumonizinek (B1, B2, B3) termelésére.
5. Megállapítottuk, hogy a magyarországi szemes cirok szemtermésekben jelen vannak a beauvericin, fumonizin B1, HT-2 toxin és zearalenon mikotoxinok. Külön kiemelendő, ez az első vizsgálat, ami hazai termőhelyről származó gabonaféle szemtermése esetében a beauvericin, mint feltörekvő mikotoxin jelenlétét igazolta.
6. Megállapítottuk, hogy lipofil antioxidánsok termelésére nagy mértékben képes a szemes cirok, ezen lipofil antioxidánsok a a lutein és a zeaxantin, a  $\gamma$ -tokotrienol, a  $\gamma$ -tokoferol, az  $\alpha$ -tokotrienol, az  $\alpha$ -tokoferol és a  $\delta$ -tokotrienol. Ehhez hasonló kutatási eredmény szemes cirok esetében még nem készült európai viszonylatban.
7. Megállapítottuk, hogy a lutein, mint lipofil antioxidáns a *F. proliferatum* faj fumonizin bioszintézisére negatív hatással van.

## 8. Összefoglalás

Kutatók a szemes cirkot a jövő gabonájaként említik a különféle élelmiszerekben való számos felhasználása, valamint magas energiatartalma, magas antioxidáns potenciálja és gluténmentessége miatt (Chhikara et al. 2019). Azonban a szempenészesedés (SGM) komoly gondot okoz a cirok termesztésében, amely hatással lehet a gabona minőségére, biztonságára és táplálkozási potenciáljára mind az élelmiszerekben, mind a takarmányokban (Ackerman et al. 2021). Jelenleg kevés kutatási eredmény áll rendelkezésünkre hazai viszonylatban a szemes cirkon megjelenő mikotoxin-termelő gombákkal és azok mikotoxinogén potenciáljával összefüggésben. Hazai viszonylatban a legtöbb publikált tanulmány a *Fusarium* fajok kukoricában, tritikálében és búzában való jelenlétének leírására összpontosított (Mesterházy 1984; Szécsi és Bartók 1995; Koncz et al. 2008; Szécsi et al. 2010). Kísérleteinkhez a minták gyűjtése 2021-ben és 2022-ben történt Magyarország hat régiójában, amely során két fő genotípust választottunk ki a szemes cirok esetében. Az izolált *Fusarium*, *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetség tagjainak azonosítására hagyományos morfológiai módszereket, valamint PCR módszert alkalmaztunk.

A *Fusarium*, *Aspergillus* és *Penicillium* fajok jelenléte a cirokszemekben óriási kockázatot jelent az élelmiszer- és takarmánybiztonságra és a fajok mikotoxinogén potenciálja miatt. Kutatásunk során 145 *Fusarium* törzset azonosítottunk cirok szemtermésekből, továbbá 25 törzs mikotoxinogén potenciálját is vizsgáltuk, amelyeket Magyarország különböző régióiból gyűjtöttünk be. Így a különböző fajok mikotoxin-termelő képességének megfigyelése során az eredmények azt mutatták, hogy az azonosított fajok többsége képes valamilyen toxin, például FB, TCTB, TCTA termelésére. További kísérleteink során 21 *Aspergillus* és 60 db *Penicillium* törzset azonosítottunk. Az *Aspergillus* mikotoxinogén potenciálját polimeráz láncreakció során az aflatoxin termelést elősegítő génekre specifikus primerekkel vizsgáltuk, amely alapján arra következtettünk, hogy az általunk izolált törzsek nagy része képes aflatoxin termelésre.

Adataink az elsőként nyújtanak betekintést a *Fusarium* fajok azonosításába szemes cirok esetében Magyarországon. Eredményeink rávilágítottak a cirok szemek lipofil antioxidáns összetételére és arra, hogy képesek gátolni a *F. proliferatum* fumonizin bioszintézisét. A *Fusarium* fajok megbízható azonosítása és mikotoxin-termelő képességük meghatározása fontos a növénybetegségek kezelése, valamint az élelmiszer- és takarmánybiztonság szempontjából. Továbbá validált LC-MS/MS módszert alkalmaztunk a többszörös mikotoxin koncentrációjának meghatározására a mintákban. Adataink segíthetnek a kis területen termesztett gabonafélék mikotoxin szabályozásában. Ezen túlmenően a nemesítők számára is segítséget nyújthat a *Fusarium* fajok variabilitásának és a fumonizin-szennyeződésre kevésbé érzékeny cirokvonalak kiválasztásának fejlett ismereteinek átadásával.

## 9. Summary

Researchers mention sorghum as the grain of the future due to its many uses in various foods, as well as its high energy content, high antioxidant potential, and gluten-freeness (Chhikara et al. 2019). However, sorghum grain mold (SGM) is a serious problem in sorghum production, which can affect the quality, safety, and nutritional potential of the grain in both food and feed (Ackerman et al. 2021). At the moment, we have results in relation to the mycotoxin-producing fungi appearing on sorghum kernels and their mycotoxigenic potential. In Hungary, most published studies focused on describing the presence of *Fusarium* species in maize, triticale, and wheat (Mesterházy 1984; Szécsi and Bartók 1995; Koncz et al. 2008; Szécsi et al. 2010). We collected samples for our experiments in six regions of Hungary in 2021 and 2022, during which we selected two main genotypes of sorghum. To identify members of the isolated genera *Fusarium*, *Aspergillus*, and *Penicillium*, traditional morphological methods and PCR methods were used.

The presence of *Fusarium*, *Aspergillus*, and *Penicillium* species in sorghum grains poses a huge risk to food and feed safety due to their mycotoxigenic potential. We identified 145 *Fusarium* strains from sorghum grains and also investigated the mycotoxigenic potential of 25 strains collected from different regions of Hungary. Thus, when observing the mycotoxin-producing ability of different species, the results showed that most of the identified species are capable of producing some toxin, such as FBs, TCTB, and TCTA. During our further experiments, we identified 21 *Aspergillus* and 60 *Penicillium* strains. We investigated the mycotoxigenic potential of *Aspergillus* using specific primers for genes promoting aflatoxin production during the polymerase chain reaction, concluding that most of the isolated strains are capable of producing aflatoxin.

Our data are the first to shed light on the identification of *Fusarium* species from sorghum kernels in Hungary. Our results highlighted the lipophilic antioxidant composition of sorghum grains and their ability to inhibit fumonisin biosynthesis by *F. proliferatum*. The identification of *Fusarium* species and the determination of their mycotoxigenic potential are important for the treatment of plant diseases and for food and feed safety. Furthermore, we used a validated LC-MS/MS method to determine the concentration of multiple mycotoxins in sorghum samples. Our data can help in the mycotoxin control of cereals grown in small areas. In addition, it can also help breeders by providing advanced knowledge of the variability of *Fusarium* species and the selection of sorghum lines less sensitive to fumonisin contamination.

## 10.Mellékletek

### 10.1. M1 – Irodalomjegyzék

1. 1881/2006 EK rendelet (2006. december 19.) az élelmiszerekben előforduló egyes szennyező anyagok felső határértékeinek meghatározásáról
2. Ackerman, A., Wenndt, A., Boyles, R. (2021): The Sorghum Grain Mold Disease Complex: Pathogens, Host Responses, and the Bioactive Metabolites at Play. *Frontiers Plant Science*, 12 660171 1-12. p.
3. Adams, T.H., Wieser, J.K., Yu, J.-H. (1998): Asexual sporulation in *Aspergillus nidulans*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62 (1): 35–54. p.
4. Ahmed, O. S., Tardif, C., Rouger, C., Atanasova, V., Richard-Forget, F., Waffo-Téguo, P. (2022): Naturally occurring phenolic compounds as promising antimycotoxin agents: Where are we now?. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21 (2) 1161-1197. p.
5. Alexander, N.J., Proctor, R.H., McCormick, S.P. (2009): Genes, gene clusters, and biosynthesis of trichothecenes and fumonisins in *Fusarium*. *Toxin Reviews*, 28 (3) 198-215.p.
6. Al-Hatmi, A. M. S., Sandoval-Denis, M., Nabet, C., Ahmed, S. A., Demar, M., Normand, A.C., De Hoog, G.S. (2019): *Fusarium volatile*, a new potential pathogen from a human respiratory sample. *Fungal Systematics and Evolution*, 4 (1) 171-181.p.
7. Althwab, S., Carr, T. P., Weller, C. L., Dweikat, I. M., Schlegel, V. (2015): Review: Advances in grain sorghum and its co-products as a human health promoting dietary system. *Food Research International*, 77 349–359.p.
8. Amaike, S., Keller, N.P. (2011): *Aspergillus flavus*. *Annual Review of Phytopathology*, 49 (1) 107-133. p.
9. Aoki, T., O'Donnell, K., Geiser, D.M. (2014): Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. *Journal of General Plant Pathology*, 80 (3) 189–201. p.
10. Asai, T., Stone, J.M., Heard, J.E., Kovtun, Y., Yorgey, P., Sheen, J. (2000): Fumonisin B1-induced cell death in *Arabidopsis* protoplasts requires jasmonate-, ethylene-, and salicylate-dependent signaling pathways. *Plant Cell*, 12 1823–1835.p.
11. Astoreca, A.L., Emateguy, L.G., and Alconada, T.M. (2019): Fungal Contamination and Mycotoxins Associated with Sorghum Crop: Relevance Today. *European Journal of Plant Pathology*. 155 381-392. p.
12. Auerbach, H., Oldenburg, E., Weissbach, F. (1998): Incidence of *Penicillium roqueforti* and Roquefortine C in Silages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76 (4) 565–572. p.

13. Awika, J. M., Rooney, L. W. (2004): Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*, 65 1199–1221.p.
14. Awika, J.M., Rooney, L.W. and Waniska, R.D. (2004): Properties of 3-Deoxyanthocyanins from Sorghum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52 4388-4394.p.
15. Baayen, R.P., O'Donnell, K., Bonants, P.J.M., Cigelnik E., Kroon L.P.N.M. (2000): Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. *Phytopathology*, 90 (8) 891–900. p.
16. Bakari, H., Djomdi, R.Z.F., Roger, D.D., Cedric, D., Guillaume, P., Pascal, D., Philippe, M., Gwendoline, C. (2023): Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) and Its Main Parts (By-Products) as Promising Sustainable Sources of Value-Added Ingredients. *Waste and Biomass Valorization*. 14 (4) 1023-1044. p.
17. Baltussen, T.J.H.; Zoll, J.; Verweij, P.E.; Melchers, W.J.G. (2020): Molecular mechanisms of conidial germination in *Aspergillus* spp. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 84 (1) 10-1128. p.
18. Bandyopadhyay, R., Butler, D. R., Chandrashekar, A., Reddy, R. K., & Navi, S. S. (2000): Biology, epidemiology, and management of sorghum grain mold. In: Technical and institutional options for sorghum grain mold management: proceedings of an international consultation (pp. 18-19). Andhra Pradesh, India ICRISAT.
19. Baranyi, N., Despot, D. J., Palágyi, A., Kiss, N., Kocsubé, S., Szekeres, A., Kecskeméti, A., Bencsik, O., Vagvölgyi, C., Segvic Klaric, M., Varga, J. (2015): Identification of *Aspergillus* species in Central Europe able to produce G-type aflatoxins. *Acta Biologica Hungarica*, 66 339-347. p.
20. Battilani, P., Rossi, V., Giorni, P., Pietri, A., Gualla, A., Van der Fels-Klerx, H. J., Booji, A., Moretti, A., Logrieco, A., Miglietta, F., Toscano, P., Miraglia, M., De Santis, B., Brera, C. (2012): Modelling, predicting and mapping the emergence of aflatoxins in cereals in the EU due to climate change. *EFSA Supporting Publications*, 9 (1) 223E.
21. Bennett, J. W., Klich, M. (2003): Mycotoxins, *Clinical Microbiology Reviews*, 16 497-516. p.
22. Bennett, J.W. (2010): An Overview of the Genus *Aspergillus*. In *The Aspergillus; Molecular Biology and Genomics*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, pp. 1–17.
23. Berenji, J., Dahlberg, J. (2004): Perspectives of sorghum in Europe. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 190 (5) 332-338.p.
24. Bhat, R., Rai, R.V., Karim, A.A. (2010): Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*, 9 (1) 57–81. p.

25. Booth, C. (1971): The Genus *Fusarium*. *Commonwealth Mycological Institute*; Kew, Surrey, UK p. 237.
26. Bottalico, A., Logrieco, A., Ritieni, A., Moretti, A., Randazzo, G., Corda, P. (1995): Beauvericin and fumonisin B1 in preharvest *Fusarium moniliforme* maize ear rot in Sardinia. *Food Additives & Contaminants*, 12 (4) 599–607.p.
27. Bottalico, A., Perrone, G. (2002): Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 108 611-624.p.
28. Boutigny, A-L., Barreau, C., Atanasova-Penichon, V., Verdal-Bonnin, M-N., Pinson-Gadais, L., Richard-Forget, F. (2009): Ferulic acid, an efficient inhibitor of type B trichothecene biosynthesis and Tri gene expression in *Fusarium* liquid cultures. *Mycological Research*, 113 (6-7) 746–753. p.
29. Brera, C., Debegnach, F., De Santis, B., Di Ianni, S., Gregori, E., Neuhold, S., Valitutti, F. (2014): Exposure assessment to mycotoxins in gluten-free diet for celiac patients, *Food and Chemical Toxicology*, 69 13-17. p.
30. Bryden, W.L., Logrieco, A., Abbas, H.K. (2001): Other significant *Fusarium* mycotoxins. In: Summerell, B.A., Leslie, J.F., Backhouse, D., Bryden, W.L., Burgess, L.W. (szerk.) *Fusarium*: Paul E. Nelson memorial symposium. APS Press, St. Paul. 408. p.
31. Caldwell, R. W., Tuite, J., Stob, M., & Baldwin, R. (1970): Zearalenone production by *Fusarium* species. *Applied Microbiology*, 20 (1) 31-34. p
32. Capasso, R., Evidente, A., Cutignano, A., Vurro, M., Zonno, M. C., Bottalico, A. (1996): Fusaric and 9, 10-dehydrofusaric acids and their methyl esters from *Fusarium nygamai*. *Phytochemistry*, 41 (4) 1035-1039.p.
33. Carvajal-Campos, A., Manizan, A.L., Tadrist, S., Akaki, D.K., Koffi-Nevry, R., Moore, G.G., Fapohunda, S.O., Bailly, S., Montet, D., Oswald I.P. (2017): *Aspergillus korhogoensis*, a novel aflatoxin producing species from the Côte d’Ivoire. *Toxins*, 9:353.
34. Chala, A., Degefu, T., Brurberg, M. B. (2019): Phylogenetically diverse *Fusarium* species associated with sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) and finger millet (*Eleusine coracana* L. Garten) grains from Ethiopia. *Diversity*, 11 (6) 93.p.
35. Chang, P.K., Ehrlich, K.C. (2010): What does genetic diversity of *Aspergillus flavus* tell us about *Aspergillus oryzae*?. *International Journal of Food Microbiology*, 138 (3) 189-199. p.
36. Chen, A.J., Tang, D., Zhou, Y.Q., Sun, B.D., Li, X.J., Wang, L.Z., Gao, W.W. (2013): Identification of ochratoxin A producing fungi associated with fresh and dry liquorice. *PLoS One*, 8 (10) e78285

37. Chen, H., Singh, H., Bhardwaj, N., Bhardwaj, S.K., Khatri, M., Kim, K.H., Peng, W. (2022): An exploration on the toxicity mechanisms of phytotoxins and their potential utilities. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52 (3) 395-435.p.
38. Chen, J., Wen, J., Tang, Y., Shi, J., Mu, G., Yan, R., Cai, J., Long, M. (2021): Research progress on fumonisin b1 contamination and toxicity: A review. *Molecules*, 26 (17) 5238. p.
39. Chhaya, R. S., O'Brien, J., Cummins, E. (2022): Feed to fork risk assessment of mycotoxins under climate change influences-recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 126 126-141. p.
40. Chhikara, N., Abdulahi, B., Munezero, C., Kaur, R., Singh, G. and Panghal, A. (2019): Exploring the nutritional and phytochemical potential of sorghum in food processing for food security, *Nutrition & Food Science*, 49 (2) 318-332. p.
41. Corallo, A.B., Del Palacio, A., Oliver, M., Tiscornia, S., Simoens, M., Cea, J., de Aurrecoechea, I., Martínez, I., Sanchez, A., Stewart, S., Pan, D. (2023): *Fusarium* Species and Mycotoxins Associated with Sorghum Grains in Uruguay. *Toxins*, 15 (8) 484. p.
42. Corrier, D.E. (1991): Mycotoxicosis: mechanisms of immunosuppression. *Veterinary immunology and immunopathology*, 30 (1) 73-87. p.
43. Cotty, P.J., Bayman, P., Egel, D.S., Elias, K.S. (1994). Agriculture, aflatoxins and *Aspergillus*. In: The Genus *Aspergillus*: From taxonomy and genetics to industrial application Boston, MA: Springer US. pp. 1-27.
44. Cotty, PJ. (2001): Cottonseed losses and mycotoxins. In.: Rothrock, C.S., Kirkpatrick, T.L., (szerk.): Compendium of Cotton Diseases, pp. 9–13. St. Paul, MN: Am. Phytopathol. Soc.
45. Cowger, C., Ward, T. J., Nilsson, K., Arellano, C., McCormick, S. P., Busman, M. (2020): Regional and field-specific differences in *Fusarium* species and mycotoxins associated with blighted North Carolina wheat. *International Journal of Food Microbiology*, 323 108594. p.
46. Crous, P.W., Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Seifert, K.A., Schroers, H-J., Chaverri, P., Gené, J., Guarro, J., Hirooka, Y., Bensch, K., Kema, G.H.J., Lamprecht, S.C., Cai, L., Rossman, A.Y., Stadler, M., Summerrbell, R.C., Taylor, J.W., Ploch, S., Visagie, C.M., Yilmaz, N., Thines, M. (2021): *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. *Studies in Mycology*, 98 1-184. p.
47. Cuevas, H.E., Fermin-Pérez, R.A., Prom, L.K., Cooper, E.A., Bean, S., Rooney, W.L. (2019): Genome-Wide Association Mapping of Grain Mold Resistance in the US Sorghum Association Panel. *The Plant Genome*, 12 (2) 1–11. p.
48. Cuevas, H.E., Prom, L.K. (2020): Evaluation of genetic diversity, agronomic traits, and anthracnose resistance in the NPGS Sudan Sorghum Core collection. *BMC Genomics*, 21 (1): 1-15. p.



49. Da Rocha, M.E.B., Freire, F.D.C.O., Maia, F.E.F., Guedes, M.I.F., Rondina, D. (2014): Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control*, 36 159–165.p.
50. Das, I.K., Audilakshim, S., Patil, J.V. (2012): *Fusarium* Grain Mold: The Major Component of Grain Mold Disease Complex in Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 6 (Special Issue 1) 45-55.p.
51. De Felice, B., Spicer, L.J., Caloni, F. (2023): Enniatin B1: Emerging Mycotoxin and Emerging Issues. *Toxins*, 15 (6) 383. p.
52. de Morais Cardoso, L., Pinheiro, S.S., da Silva, L.L., de Menezes, C.B., de Carvalho, C.W.P., Tardin, F.D., Vieira Queiroz, V.A., Duarte Martino, H.S., Pinheiro-Sant’Ana, H.M. (2015): Tocochromanols and carotenoids in sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Diversity and stability to the heat treatment. *Food Chemistry*, 172 900-908. p.
53. Degola, F., Berni, E., Dall’Asta, C., Spotti, E., Marchelli, R., Ferrero, I., Restivo, F.M. (2007): A multiplex RT-PCR approach to detect aflatoxigenic strains of *Aspergillus flavus*. *Journal of Applied Microbiology*, 103 (2) 409–417. p.
54. Delgado, J., Owens, R. A., Doyle, S., Asensio, M. A., & Núñez, F. (2015): Impact of the antifungal protein PgAFP from *Penicillium chrysogenum* on the protein profile in *Aspergillus flavus*. *Applied Microbiology and biotechnology*, 99 (20) 8701-8715. p.
55. Desjardins, A.E. (2006): *Fusarium* mycotoxins, chemistry, genetics, and biology. *American Phytopathological Society APS Press*, St. Paul Minnesota, USA. 260. p.
56. Dobolyi, C. S., Sebők, F., Varga, J., Kocsubé, S., Szigeti, G., Baranyi, N., Szécsi, Á., Tóth, B., Varga, M., Kriszt, B., Szoboszlay, S., Krifaton, C., Kukolya, J. (2013): Occurrence of aflatoxin producing *Aspergillus flavus* isolates in maize kernel in Hungary. *Acta Alimentaria*, 42 (3) 451-459. p.
57. Ducksbury, C., Stefoska-Needham, A.A. (2022): Audit of Sorghum in Selected Cereal Food Product in Australian Supermarkets. *Nutrients*, 14 (9) 1821 p.
58. Dykes, L., Rooney, L. W. (2006): Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of cereal science*, 44 (3) 236-251. p.
59. Eaton, D.L., Gallagher E.P. (1994): Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Annual Review Pharmacology Toxicology*, 34 (1) 135-172. p.
60. Edwards, S.G., Imathiu, S.M., Ray, R.V., Back, M., Hare, M.C. (2012): Molecular studies to identify the *Fusarium* species responsible for HT-2 and T-2 mycotoxins in UK oats. *International Journal of Food Microbiology*, 156 (2) 168-175.p.
61. EFSA (2011): Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of zearalenone in food (by EFSA panel on contaminants in the food chain). *EFSA Journal* 9 (2) 2197. p.

62. EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain) (2014): Scientific opinion on the risks to human and animal health related to the presence of beauvericin and enniatins in food and feed. *EFSA Journal*, 12 (8) 3802. p.
63. Elvira-Torales, L.I., García-Alonso, J., and Periago-Castón, M.J. (2019): Nutritional Importance of Carotenoids and Their Effect on Liver Health: A Review. *Antioxidants*, 8 (229) 1-23. p.
64. Espitia-Hernández, P., Chavez Gonzalez, M.L., Ascacio-Valdés, J.A., Dávila-Medina, D., Flores-Naveda, A., Silva, T., Ruelas, X., Sepúlveda, C.L. (2022): Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) as a potential source of bioactive substances and their biological properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62 (8) 2269-2280. p.
65. Fadhli, N, Farid, M., Effendi, R., Azari, M., Anshori, M.F. (2020): Multivariate analysis to determine secondary characters in selecting adaptive hybrid corn lines under drought stress. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21 (8)
66. FAOSTAT (2023): Food and Agriculture Organization of the United Nations – Food and agriculture data
67. Ferrigo, D., Raiola, A., Causin, R. (2016): *Fusarium* Toxins in Cereals: Occurrence, Legislation, Factors Promoting the Appearance and Their Management. *Molecules*, 21 (5) 627. p.
68. Ferrigo, D., Mondin, M., Raiola, A. (2022): Pathogenic and Genetic Characterization of *Fusarium verticillioides* Strains Collected from Maize and Sorghum Kernels. *Agriculture*, 13 (1) 105. p.
69. Frederiksen, R.A., Rosenow, D.T., Wilson, J.M. (1973): *Fusarium* head blight of sorghum in Texas. In: Proceedings of 8th Biennial Grain Sorghum Research and Utilization Conference. Lubbock, TX. 33-36. p.
70. Frisvad, J., Hubka, V., Ezekiel, C., Hong, S.-B., Nováková, A., Chen, A., Arzanlou, M., Larsen, T., Sklenář, F., Mahakarnchanakul, W. (2018): Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Studies in Mycology*, 93 (1) 1–63. p.
71. Frisvad, J., Samson, R.A. (2004): Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in Mycology*, 49 (1) 1–174. p.
72. Frisvad, J.C., Thrane, U., Samson, R.A. et al (2006): Important mycotoxins and the fungi which produce them. *Advances in Food Mycology*, 3-31. p.
73. Fumero, M.V., Villani, A., Susca, A., Haidukowski, M., Cimmarusti, M. T., Toomajian, C., Leslie, J.F., Chulze, S.N., Moretti, A. (2020): Fumonisin and beauvericin chemotypes and

genotypes of the sister species *Fusarium subglutinans* and *Fusarium temperatum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 86 (13) e00133-20.

74. Fumero, M.V., Reynoso, M.M., Chulze, S. (2015): *Fusarium temperatum* and *Fusarium subglutinans* isolated from maize in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 199 86-92.p.
75. Gadzała-Kopciuch, R., Cendrowski, K., Cesarz, A., Kielbasa, P., Buszewski, B. (2011): Determination of zearalenone and its metabolites in endometrial cancer by coupled separation techniques, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401 (7) 2069-2078. p.
76. Galgóczy, L., Virágh, M., Kovács, L., Tóth, B., Papp, T., & Vágvölgyi, C. (2013): Antifungal peptides homologous to the *Penicillium chrysogenum* antifungal protein (PAF) are widespread among Fusaria. *Peptides*, 39, 131-137. p.
77. Gallo, A., Stea, G., Battilani, P.F., Logrieco, A., Perrone, G. (2012): Molecular characterization of an *Aspergillus flavus* population isolated from maize during the first outbreak of aflatoxin contamination in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 51 (1) 198–206. p.
78. Gani, A., Wani, S. M., Masoodi, F. A., & Hameed, G. (2012): Whole-grain cereal bioactive compounds and their health benefits: A review. *Journal of Food Process Technology*, 3 (3) 146-56. p.
79. Geiser, D.M., Al-Hatmi, A.M.S., Aoki, T., Arie, T., Balmas, V., Barnes, I., Bergstrom, G.C., Bhattacharyya, M.K.K., Blomquist, C.L., Bowden, R.L., Brankovics, B., Brown, D.W., Burgess, L.W., Bushley, K., Busman, M., Cano-Lira, J.F., Carrillo, J.D., Chang, H.-X., Chen, C.-Y., Chen, W., Chilvers, M., Chulze, S., Coleman, J.J., Cuomo, C.A., de Beer, Z.W., de Hoog, G.S., Del Castillo-Múnera, J., Del Ponte, E.M., Diéguez-Uribeondo, J., Di Pietro, A., Edel-Hermann, V., Elmer, W.H., Epstein, L., Eskalen, A., Esposto, M.C., Everts, K.L., Fernández-Pavía, S.P., da Silva, G.F., Foroud, N.A., Fourie, G., Frandsen, R.J.N., Freeman, S., Freitag, M., Frenkel, O., Fuller, K.K., Gagkaeva, T., Gardiner, D.M., Glenn, A.E., Gold, S.E., Gordon, T.R., Gregory, N.F., Gryzenhout, M., Guarro, J., Gugino, B.K., Gutiérrez, S., Hammond-Kosack, K.E., Harris, L.J., Homa, M., Hong, C.-F., Hornok, L., Huang, J.-W., Ilkit, M., Jacobs, A., Jacobs, K., Jiang, C., Jimenez-Gasco, M.D.M., Kang, S., Kasson, M.T., Kazan, K., Kennell, J.C., Kim, H.-S., Kistler, H.C., Kuldau, G.A., Kulik, T., Kurzai, O., Laraba, I., Laurence, M.H., Lee, T., Lee, Y.-W., Lee, Y.-H., Leslie, J.F., Liew, E.C.Y., Lofton, L.W., Logrieco, A.F., López-Berges, M.S., Luque, A.G., Lysøe, E., Ma, L.-J., Marra, R.E., Martin, F.N., May, S.R., McCormick, S.P., McGee, C., Meis, J.F., Migheli, Q., Mohamed Nor, N.M.I., Monod, M., Moretti, A., Mostert, D., Mulé, G., Munaut, F., Munkvold, G.P., Nicholson, P., Nucci, M., O'Donnell, K., Pasquali, M., Pfenning, L.H., Prigitano, A., Proctor, R.H., Ranque,

- S., Rehner, S.A., Rep, M., Rodríguez-Alvarado, G., Rose, L.J., Roth, M.G., Ruiz-Roldán, C., Saleh, A.A., Salleh, B., Sang, H., Scandiani, M., Scauflaire, J., Schmale, D.G., III, Short, D.P.G., Šišić, A., Smith, J.A., Smyth, C.W., Son, H., Spahr, E., Stajich, J.E., Steenkamp, E., Steinberg, C., Subramaniam, R., Suga, H., Summerell, B.A., Susca, A., Swett, C.L., Toomajian, C., Torres-Cruz, T.J., Tortorano, A.M., Urban, M., Vaillancourt, L.J., Vallad, G.E., van der Lee, T.A.J., Vanderpool, D., van Diepeningen, A.D., Vaughan, M.M., Venter, E., Vermeulen, M., Verweij, P.E., Viljoen, A., Waalwijk, C., Wallace, E.C., Walther, G., Wang, J., Ward, T.J., Wickes, B.L., Wiederhold, N.P., Wingfield, M.J., Wood, A.K. M., Xu, J.-R., Yang, X.-B., Yli-Matilla, T., Yun, S.-H., Zakaria, L., Zhang, H., Zhang, N., Zhang, S. X., and Zhang, X. (2021): Phylogenomic analysis of a 55.1-kb 19-gene dataset resolves a monophyletic *Fusarium* that includes the *Fusarium solani* species complex. *Phytopathology*, 111 (7) 1064-1079. p.
80. Geiser, D.M., del Mar Jiménez-Gasco, M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J., Zhang, N., Kuldau, G.A., O'Donnell, K. (2004): FUSARIUM-ID v 1.0.: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 473-479.
81. Gelderblom, W.C.A., Jaskiewicz, K., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Horak, R.M., Vleggaar, R. (1988): Fumonisin – novel mycotoxins with cancerpromoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied Environmental Microbiology*, 54 (7) 1806–1811.p.
82. Gemed, H.F., University, A.A. (2016): Study on *Aspergillus* Species and Aflatoxin Levels in Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Stored for Different Period and Storage System in Kewet Districts, Northern Shewa, Ethiopia. *Food Sci Nutrition*, 2 (010) 1–8. p.
83. Gräfenhan, T., Schroers, H.J., Nirenberg, H.I., Seifert, K.A. (2011): An overview of the taxonomy, phylogeny, and typification of nectriaceous fungi in *Cosmospora*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Stilbella*, and *Volutella*. *Studies in Mycology*, 68 (1) 79-113.p.
84. Gupta, R. (1996): Seedborne fungi in sorghum. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 39-40. p.
85. Han, Z., Tangni, E.K., Huybrechts, B., Munaut, F., Scauflaire, J., Wu, A., Callebaut, A. (2014): Screening survey of co-production of fusaric acid, fusarin C, and fumonisins B1, B2 and B3 by *Fusarium* strains grown in maize grains. *Mycotoxin Research*, 30 (4) 231–240. p.
86. Hansen, J., Marchant, M. A., Zhang, W., & Grant, J. (2018): Upheaval in China's imports of US Sorghum. *Choices*, 33(2), 1-8.p.
87. Hansen, J., Marchant, M.A., Zhang, W., and Grant, J. (2018): Upheaval in China's imports of US. Sorghum. *Choices*, 33 (2) 1-8.p.

88. Herron, D.A., Wingfield, M.J., Wingfield, B.D., Rodas, C.A., Marincowitz, S., Steenkamp, E.T. (2015): Novel taxa in the *Fusarium fujikuroi* species complex from *Pinus* spp. *Studies in Mycology*, 80 131-150.p.
89. Hong, S.B., Cho, H.S., Shin, H.D., Frisvad, J.C., Samson, R.A. (2006): Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56 (2) 477-486. p.
90. Horn B.W., Pitt J.I. (1997): Yellow mold and aflatoxin. In: Compendium of Peanut Diseases, ed. Kokalis- Burelle, N., Porter, D.M., Rodriguez-Kabana, DH Smith, D.H. Subrahmanyam, pp. 44–49. St. Paul, MN: Am. Phytopathol. Soc.
91. Horn, B.W. (2007): Biodiversity of *Aspergillus* section *Flavi* in the United States: A review, *Food Additives and Contaminants*, 24 1088-1101. p.
92. Hornbogen, T., Glinski, M., Zocher, R. (2002): Biosynthesis of depsipeptide mycotoxins in *Fusarium*. *Mycotoxins in Plant Disease: Under the aegis of COST Action 835 'Agriculturally Important Toxicogenic Fungi 1998-2003', EU project (QLK 1-CT-1998-01380), and ISPP 'Fusarium Committee'*, 713-718.p.
93. Houbraken, J., Samson, R.A. (2011): Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families. *Studies in Mycology*, 70 (1) 1–51. p.
94. Huzsvai, L., Zsembeli, J., Kovács, E., Juhász, Cs. (2020): Can Technological Development Compensate for the Unfavorable Impacts of Climate Change? Conclusions from 50 Years of Maize (*Zea mays* L.) Production in Hungary. *Atmosphere*, 11 (12) 1350. p.
95. IARC (1993): Ochratoxin A, IARCS Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 56 489–452. p.
96. Ilgen, P., Maier, F., Schafer, W. (2008): Trichothecenes and lipases are host-induced and secreted virulence factors of *Fusarium graminearum*, *Cereal Research Communications*, 36 (Supplement-6) 421–28. p.
97. Jand, S. K., Kaur, P., Sharma, N.S. (2005): Mycoses and mycotoxicosis in poultry: A review. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 75 (4)
98. Jestoi, M. (2008): Emerging *Fusarium* mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins, and moniliformin—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48 (1) 21–49. p.
99. Ji, F., He, D., Olaniran, A.O., Mokoena, M.P., Xu, J., and Shi, J. (2019): Occurance, toxicity, production and detection of *Fusarium* mycotoxins: a review. *Food Production. Processing and Nutrition*, 1 (6) 1-14. p.
100. Jin, F.-J.; Hu, S.; Wang, B.-T.; Jin, L. (2021): Advances in genetic engineering technology and its application in the industrial fungus *Aspergillus oryzae*. *Frontiers in Microbiology*, 12 644404. p.

101. Kange, A.M., Cheruiyot, E.K., Ogendo, J.O., Arama, P.F. (2015): Effect of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) grain conditions on occurrence of mycotoxin-producing fungi. *Agriculture & Food Security*, 4 1-8.p.
102. Kean, E.G., Ejeta, G., Hamaker, B.R. and Ferruzzi, M. (2007): Characterization of Carotenoid Pigments in Mature and Developing Kernels of Selected Yellow-Endosperm Sorghum Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (7) 2619-2626. p.
103. Kelly, A., Proctor, R.H., Belzile, F., Chulze, S.N., Clear, R.M., Cowger, C., Elmer, W., Lee, T., Obanor, F., Waalwijk, C. (2016): The geographic distribution and complex evolutionary history of the NX-2 trichothecene chemotype from *Fusarium graminearum*. *Fungal Genetics and Biology*, 95 39–48. p.
104. Kerényi, Z., Moretti, A., Waalwijk, C., Oláh, B., Hornok, L. (2004): Mating type sequences in asexually reproducing *Fusarium* species. *Applied Environmental Microbiology*, 70 (8) 4419-4423. p.
105. Kikot, G.E., Hours, R.A., Alconada, T.M. (2009): Contribution of cell wall degrading enzymes to pathogenesis of *Fusarium graminearum*: a review. *Journal of basic microbiology*, 49 (3) 231-241.p.
106. Klich, M.A. (2007): *Aspergillus flavus*: The major producer of aflatoxin. *Molecular Plant Pathology*, 8 (6) 713–722. p.
107. Kobayashi, T.; Abe, K.; Asai, K.; Gomi, K.; Juvvadi, P.R.; Kato, M.; Kitamoto, K.; Takeuchi, M.; Machida, M. (2007): Genomics of *Aspergillus oryzae*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71 (3) 646–670. p.
108. Koncz, Z., Huszti, K., Naár, Z., Kiss, A., Szécsi, Á. (2008): PCR identification of *Fusarium graminearum* isolated from wheat grain. *Cereal Research Communications*, 36 623-630.p.
109. Kovács, B., Hegedűs, N., Bálint, M., Szabó, Z., Emri, T., Kiss, G., Antal, M., Pócsi, I., Leiter, É. (2014): *Penicillium* antifungal protein (PAF) is involved in the apoptotic and autophagic processes of the producer *Penicillium chrysogenum*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 61 (3) 379-388. p.
110. Körösi, K., Szabadi, M., Turóczi, Gy. (2016): Occurance of *Aspergillus* Species on Maize Kernels from the Southern Region of Hungary. *Növényvédelem*, 77 (7) 344-352. p.
111. KSH – Központi Statisztikai Hivatal (2023)
112. Kubena, L., Harvey, R., Buckley, S., Edrington, T., Rottinghaus, G. (1997): Individual and Combined Effects of Moniliformin Present in *Fusarium fujikuroi* Culture Material and Aflatoxin in Broiler Chicks, *Poultry Science*, 76 (2) 265-270. p.

113. Lalak-Kańczugowska, J., Witaszak, N., Waśkiewicz, A., Bocianowski, J., Stępień, Ł. (2023): Plant metabolites affect *Fusarium proliferatum* metabolism and in vitro fumonisin biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (3) 3002. p.
114. Laraba, I., McCormick, S. P., Vaughan, M. M., Geiser, D. M., O'Donnell, K. (2021): Phylogenetic diversity, trichothecene potential, and pathogenicity within *Fusarium sambucinum* species complex. *PLoS One*, 16 e0245037.
115. Larsen, T.O., Svendsen, A., Smedsgaard, J. (2001): Biochemical characterization of ochratoxin A-producing strains of the genus *Penicillium*. *Applied Environmental Microbiology*, 67 (8) 3630–3635. p.
116. Leslie, J.F., Moretti, A., Mesterházy, Á., Ameye, M., Audenaert, K., Singh, P.K., Richard-Forget, F., Chulze, S.N., Del Ponte, E.M., Chala, A., Battilani, P., Logrieco, A. (2021): Key Global Actions for Mycotoxin Management in Wheat and Other Small Grains. *Toxins*, 13 (10) 725. p.
117. Leslie, J.F., Pearson, C.A., Nelson, P.E., Toussoun, T. (1990): *Fusarium* spp. from corn, sorghum, and soybean fields in the central and eastern United States. *Ecol. Stud*, 44 66.p.
118. Leslie, J.F., Plattner, R.D., Desjardins, A.E., Klittich, C.J.R. (1992): Fumonisin B1 production by strains from different mating populations of *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium* section *Liseola*). *Phytopathology*, 82 (3) 341-345.p.
119. Leslie, J.F., Summerell, B.A. (2006): *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing, Oxford, UK. 388. p.
120. Leslie, J.F., Zeller, K.A., Lamprecht, S.C., Rheeder, J.P., & Marasas, W.F. (2005): Toxicity, pathogenicity, and genetic differentiation of five species of *Fusarium* from sorghum and millet. *Phytopathology*, 95 (3) 275-283.p.
121. Little, C. R., Perumal, R., Tesso, T. T., Prom, L. K., Odvody, G. N., Magill, C. W. (2011): Sorghum pathology and biotechnology-A fungal disease perspective: part I. Grain mold, head smut, and ergot. *European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 6 (Special Issue 1) 10-30. p.
122. Logrieco, A., Moretti, A., Ritieni, A., Chelkowski, J., Altomare, C., Bottalico, A., Randazzo, G. (1993): Natural occurrence of beauvericin in preharvest *Fusarium subglutinans* infected corn ears in Poland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41 (11) 2149-2152.p.
123. Logrieco, A., Rizzo, A., Ferracane, R., Ritieni, A. (2002). Occurrence of beauvericin and enniatins in wheat affected by *Fusarium avenaceum* head blight. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (1) 82-85. p.

124. Lombard, L., Van der Merwe, N.A., Groenewald, J.Z., Crous, P.W. (2015): Generic concepts in Nectriaceae. *Studies in Mycology*, 80 (1) 189-245.p.
125. Lombard, L., Van Doorn, R., Crous, P.W. (2019): Neotypification of *Fusarium chlamydosporum*-a reappraisal of a clinically important species complex. *Fungal Systematics and Evolution*, 4 (1) 183-200.p.
126. Lombard, M. J. (2014). Mycotoxin Exposure and Infant and Young Child Growth in Africa: What Do We Know? *Annals of nutrition and metabolism*, 64 (Suppl. 2) 42–52. p.
127. López-Díaz, T. M., Santos, J. A., García-López, M. L., Otero, A. (2001): Surface mycoflora of a Spanish fermented meat sausage and toxigenicity of *Penicillium* isolates. *International Journal of Food Microbiology*, 68 (1-2) 69-74. p.
128. Lund, F., Frisvad, J. C. (2003): *Penicillium verrucosum* in wheat and barley indicates presence of ochratoxin A. *Journal of Applied Microbiology*, 95 (5) 1117-1123.
129. Lux, P.E., Freiling, M., Stuetz, W., von Tucher, S., Carle, R., Steingass, C.B., Frank, J. (2020): (Poly) phenols, carotenoids, and tocochromanols in corn (*Zea mays* L.) kernels as affected by phosphate fertilization and sowing time. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68 (2) 612-622.p.
130. Mahato, D.K., Pandhi, S., Kamle, M., Gupta, A., Sharma, B., Panda, B.K., Srivastava, S., Kumar, M., Selvakumar, R., Pandey, A.K., Suthar, P., Arora, S., Kumar, A., Gamlath, S., Bharti, A., Kumar, P. (2022): Trichothecenes in food and feed: Occurrence, impact on human health and their detection and management strategies, *Toxicon*, 208 62-75. p.
131. Malloch, D. (1985): The *Trichocomaceae*: relationships with other *Ascomycetes*. In: *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics* Boston, MA: Springer US. pp. 365-382
132. Marasas, W.F.O., Riley, R.T., Hendricks, K.A., Stevens, V.L., Sadler, T.O., Gelineauvan van Waes, J., Missmer, S.A., Cabrera, J., Torres, O., Gelderblom, W.A., Allegood, J., Martínez, C., Maddox, J., Miller, J.D., Starr, L., Sullards, M.C., Roman, A.V., Voss, K.A., Wang, E., Merrill, A.H. (2004): Fumonisin disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and in vivo a potential risk factor for human neural tube defects among populations consuming fumonisin-contaminated maize. *The Journal of Nutrition*, 134 (4) 711–716.p.
133. Maresca, M. (2013): From the Gut to the Brain: Journey and Pathophysiological Effects of the Food-Associated Trichothecene Mycotoxin Deoxynivalenol. *Toxins* 5 784–820. p.
134. Martin, C., Schöneberg, T., Vogelgsang, S., Mendes Ferreira, C. S., Morisoli, R., Bertossa, M., Bucheli, T.D., Mauch-Mani, B., Mascher, F. (2018): Responses of oat grains to *Fusarium poae* and *F. langsethiae* infections and mycotoxin contaminations. *Toxins*, 10(1), 47. p.



135. Martínez-Culebras, P. V., Gandía, M., Garrigues, S., Marcos, J. F., Manzanares, P. (2021): Antifungal peptides and proteins to control toxigenic fungi and mycotoxin biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (24) 13261. p.
136. Martino, H.S.D., Tomaz, P.A., Moraes, E.A., Conceição, L.D., Oliveira, D.D. S., Queiroz, V.A.V., ... & Ribeiro, S M.R. (2012). Chemical characterization and size distribution of sorghum genotypes for human consumption. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 71 (2) 337-344. p.
137. Mawouma, S., Condurache, N.N., Turturică, M., Constantin, O.E., Croitoru, C., Rapeanu, G. (2022): Chemical composition and antioxidant profile of sorghum (*sorghum bicolor* (L.) moench) and pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) grains cultivated in the far-North region of Cameroon. *Foods*, 11 (14) 2026. p.
138. Meena, K., Visarada, K.B.R.S., Meena, D.K. (2022): *Sorghum bicolor* L. Moench a multifarious crop-fodder to therapeutic potential and biotechnological applications: A future food for the millenium. *Future Food*,. 6 1-14. p.
139. Meena, M., Samal, S. (2019): Alternaria host-specific (HSTs) toxins: An overview of chemical characterization, target sites, regulation and their toxic effects. *Toxicology Reports*, 6 745-758.p.
140. Mielniczuk, E.; Skwaryło-Bednarz, B. (2020): Fusarium Head Blight, Mycotoxins and Strategies for Their Reduction. *Agronomy* 10 (4) 509. p.
141. Miller, J.D. (2008): Mycotoxin in small grains and maize: old problems, new challenges. *Food Additives and Contaminants*, 25 (2) 219-230.p.
142. Montibus, M., Ducos, C., Bonnin-Verdal, M.N., Bormann, J., Ponts, N., Richard-Forget, F., Barreau, C. (2013): The bZIP transcription factor Fgap1 mediates oxidative stress response and trichothecene biosynthesis but not virulence in *Fusarium graminearum*. *PLoS One*, 8 (12) e83377. p.
143. Montibus, M., Pinson-Gadais, L., Richard-Forget, F., Barreau, C., Ponts, N. (2015): Coupling of transcriptional response to oxidative stress and secondary metabolism regulation in filamentous fungi. *Critical reviews in microbiology*, 41 (3) 295-308. p.
144. Montibus, M., Vitrac, X., Coma, V., Loron, A., Pinson-Gadais, L., Ferrer, N., Verdal-Bonnin, M.N., Gabaston, J., Waffo-Téguo, P., Richard-Forget, F., Atanasova, V. (2021): Screening of wood/forest and vine by-products as sources of new drugs for sustainable strategies to control *Fusarium graminearum* and the production of mycotoxins. *Molecules*, 26(2), 405.p.

145. Moretti, A., Logrieco, A., Bottalico, A., Ritieni, A., Fogliano, V., Randazzo, G. (1996): Diversity in beauvericin and fusaproliferin production by different populations of *Gibberella fujikuroi* (Fusarium section Liseola). *Sydowia*, 48 (1) 44–56.p.
146. Moretti, A., Mulé, G., Ritieni, A., Láday, M., Stubnya, V., Hornok, L., Logrieco, A. (2008): Cryptic subspecies and beauvericin production by Fusarium subglutinans from Europe. *International Journal of Food Microbiology*, 127 (3) 312-315. p.
147. Munkvold, G., Stahr, H.M., Logrieco, A., Moretti, A., Ritieni, A. (1998): Occurrence of fusaproliferin and beauvericin in *Fusarium* contaminated livestock feed in Iowa. *Applied Environmental Microbiology*, 64 (10) 3923–3926. p.
148. Munkvold, G.P. (2003): Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins ears. *European Journal of Plant Pathology*, 109:705–713. p.
149. Munkvold, G.P. (2017): Fusarium Species and Their Associated Mycotoxins. In.: Moretti, A. Susca, A. (szerk.): *Mycotoxigenic Fungi: Methodes and Protocoles*. Methodes in Molecular Biology. 1542. p. pp. 51-76.
150. Munkvold, G.P., Logrieco, A., Moretti, A., Ferracane, R., Ritieni, A. (2009): Dominance of group 2 and fusaproliferin production by Fusarium subglutinans from Iowa maize. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 26 (3) 388-394. p.
151. Munkvold, G.P., Proctor, R.H., Moretti, A. (2021): Mycotoxin production in Fusarium according to contemporary species concepts. *Annual Review of Phytopathology*, 59 373-402. p.
152. MYCOBANK Databse – Fungal Databases, Nomenclature and Species Banks <https://www.mycobank.org/> Lekérdezés időpontja: 2023.11.05.
153. Nalim, F.A., Samuels, G.J., Wijesundera, R.L., Geiser, D.M. (2011): New species from the *Fusarium solani* species complex derived from perithecia and soil in the Old World tropics. *Mycologia*, 103 (6) 1302-1330.p.
154. Navi, S.S., Bandyopadhyay, R., Hall, A.J., Bramel-Cox, P. (1999): A pictorial guide for the identification of mold fungi on sorghum grain. Information Bulletin No. 59. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patancheru, Hyderabad India 118.p.
155. Nelson, P.E., Plattner, R.D., Shackelford, D.D., Desjardins, A.E. (1992): Fumonisin B1 production by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in section *Liseola* and by some related species. *Applied Environmental Microbiology*, 58 (3) 984-989. p.
156. Nganje, W.E., Kaitibie, S., Wilson, W.W., Leistriz, F.L., Bangsund, D.A. (2004): Economic impacts of Fusarium head blight in wheat and barley: 1993–2001. *Agribusiness and Applied Economics Report No. 538*. Department of Agribusiness and Applied Economics, North Dakota State University, ND, USA.

157. Niro, S., D'Agostino, A., Fratianni, A., Cinquanta, L., Panfili, G. (2019): Gluten-free alternative grains: Nutritional evaluation and bioactive compounds. *Foods*, 8 (6) 208. p.
158. Norton, R.A. (1997): Effect of carotenoids on aflatoxin B1 synthesis by *Aspergillus flavus*. *Phytopathology*, 87 (8) 814-821.p.
159. O'Donnell, K., Al-Hatmi, A.M., Aoki, T., Brankovics, B., Cano-Lira, J.F., Coleman, J.J., Sybren de Hoog, G., Di Pietro, A., Fradsen, R.J.N., Geiser, D.M., Gibas, C.F.C., Guarro, J., Kim, H-S., Kistler, H.C., Laraba, I., Leslie, J.F., López-Berges, M.S., Lysoe, E., Meis, J.F., Monod, M., Proctor, R.H., Rep, M., Ruiz-Roldán, C., Sisic, A., Stajich, J.E., Steenkamp, E.T., Summerell, B.A., van der Lee, T.A.J., van Diepeningen, Verweij, P.E., Waalwijk, C., Ward, T.J., Wickes, B.L., Wiederhold, N.P., Wingfield, M.J., Zhang, N., Zhang, S.X. (2020): No to Neocosmospora: phylogenomic and practical reasons for continued inclusion of the *Fusarium solani* species complex in the genus *Fusarium*. *Mosphere*, 5 (5) 10-1128.p.
160. O'Donnell, K., Humber, R. A., Geiser, D. M., Kang, S., Park, B., Robert, V. A. R. G., Crous, P. W., Johnston, P. R., Aoki, T., Rooney, A. P., and Rehner, S. A. (2012): Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and *Fusarium* MLST. *Mycologia*, 104 (2) 427-445. p.
161. O'Donnell, K., Kistler, H.C., Cigelnik, E., Ploetz, R.C. (1998b): Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the Unites States of America*, 95 (5) 2044-2049. p.
162. O'Donnell, K., Nirenberg, H.I., Aoki, T., Cigelnik, E. (2000): A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: detection of additional phylogenetically distinct species. *Mycoscience*, 41 (1) 61-78. p.
163. O'Donnell, K., Rooney, A.P., Proctor, R.H., Brown, D.W., McCormick, S.P., Ward, T.J., Frandsen, R.J.N., Lysøe, E., Rehner, S.A., Aoki, T., Robert, V.A.R.G., Crous, P.W., Groenewald, J.Z., Kang, S., and Geiser, D.M. (2013): Phylogenetic analyses of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. *Fungal Geneics and Biology*, 52 20-31. p.
164. O'Donnell, K. (2000): Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca*-*Fusarium solani* species complex. *Mycologia*, 92 (5) 919-938.p.
165. O'Donnell, K., Cigelnik, E., Nirenberg, H.I. (1998a): Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90 (3) 465-493.p.
166. O'Donnell, K., Sarver, B.A., Brandt, M., Chang, D.C., Noble-Wang, J., Park, B.J., Sutton, D.A., Benjamin, L., Lindsley, M., Padhye, A., Geiser, D.M., Ward, T. J. (2007): Phylogenetic

- diversity and microsphere array-based genotyping of human pathogenic *Fusaria*, including isolates from the multistate contact lens-associated US keratitis outbreaks of 2005 and 2006. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(7) 2235-2248.p.
167. O'Donnell, K., Sutton, D.A., Rinaldi, M.G., Sarver, B.A., Balajee, S.A., Schroers, H.J., Summerbell, R.C., Robert, V.A.R.G., Crous, P.W., Zhang, N., Aoki, T., Jung, K., Park, J., Lee H-W., Kang, S., Park, B., Geiser, D.M. (2010): Internet-accessible DNA sequence database for identifying fusaria from human and animal infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 48 (10) 3708-3718.p.
  168. Onyike, N.B.N., Nelson, P.E. (1992): *Fusarium* species associated with sorghum grain from Nigeria Lesotho, and Zimbabwe. *Mycologia*, 84 (3) 452-458.p.
  169. Ortiz, D., Ferruzzi, M.G. (2019): Identification and Quantification of Carotenoids and Tocochromanols in Sorghum Grain by High-Performance Liquid Chromatography. In.: Zhao, Z-Y., Dahlberg, J. (2019): *Sorghum: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. 1931 141-151. p.
  170. Ostry, V., Malir, F., Toman, J., Grosse, Y. (2017): Mycotoxins as human carcinogens—the IARC Monographs classification. *Mycotoxin Research*, 33, 65–73. p.
  171. Palencia, E.R., Hinto, D.M., Bacon, C.W. (2010): The black *Aspergillus* species of maize and peanuts and their potential for mycotoxin production, *Toxins*, 2 (4) 399-416. p.
  172. Park, H.-S.; Jun, S.-C.; Han, K.-H.; Hong, S.-B.; Yu, J.-H. (2017): Diversity, application, and synthetic biology of industrially important *Aspergillus* fungi. *Advances in Applied Microbiology*, 100 161–202. p.
  173. Park, H.-S.; Yu, J.-H. (2012): Genetic control of asexual sporulation in filamentous fungi. *Current Opinion in Microbiology*, 15 (6) 669–677. p.
  174. Paterson, R.R.M., Lima, N. (2011): Further mycotoxin effects from climate change. *Food Research International*, 44 (9) 2555-2566. p.
  175. Payne, G.A. (1998): Process of contamination by aflatoxin-producing fungi and their impact on crops. *Mycotoxins in agriculture and food safety*, 9 279-306. p.
  176. Peraica, M., Radić, B., Lucić, A., Pavlović, M. (1999): Toxic effects of mycotoxins in humans, *Bull World Health Organ*, 77 (9) 754–766. p.
  177. Perrone, G., Ferrara, M., Medina, A., Pascale, M., Magan, N. (2020): Toxigenic Fungi and Mycotoxins in a Climate Change Scenario: Ecology, Genomics, Distribution, Prediction and Prevention of the Risk. *Microorganisms*, 8 (10) 1496. p.
  178. Perrone, G., Susca, A. (2017): *Penicillium* Species and Their Associated Mycotoxins. In: Moretti, A., Susca, A. (szerk.): *Mycotoxigenic Fungi. Methods in Molecular Biology*, vol 1542. Humana Press, New York, NY. pp. 107-119. 394. p.

179. Phillips, R.D., Hayes, A.W., Berndt, W.O., Williams, W.L. (1980): Effects of citrinin on renal function and structure. *Toxicology*, 16 (2) 123-137. p.
180. Picot, A., Atanasova-Pénichon, V., Pons, S., Marchegay, G., Barreau, C., Pinson-Gadais, L., Roucolle, J., Daveau, F., Caron, D., Richard-Forget, F. (2013): Maize Kernel Antioxidants and Their Potential Involvement in Fusarium Ear Rot Resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (14) 3389-3395. p.
181. Picot, A., Barreau, C., Pinson-Gadais, L., Caron, D., Lannou, C., Richard-Forget, F. (2010): Factors of the Fusarium verticillioides-maize environment modulating fumonisin production. *Critical Reviews in Microbiology*, 36 (3) 221-231. p.
182. Pitt, J.I. (1979): The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces. Academic Press Inc. Ltd., 634. p.
183. Pitt, J.I. (2000): Toxigenic fungi: which are important?. *Medical Mycology*, 38 (1) 17-22. p.
184. Pitt, J.I., Hocking, A.D. (2022): Ecology of fungal food spoilage. In Fungi and food spoilage (pp. 3-12). Cham: Springer International Publishing.
185. Plattner, R.D., Nelson, P.E. (1994): Production of beauvericin by a strain of Fusarium proliferatum isolated from corn fodder for swine. *Applied and Environmental Microbiology*, 60 (10) 3894-3896.p.
186. Polak-Śliwińska, M., Paszczyk, B. (2021): Trichothecenes in Food and Feed, Relevance to Human and Animal Health and Methods of Detection: A Systematic Review, *Molecules*, 26 (2) 454. p.
187. Pontes, J.G.D.M., Fernandes, L.S., dos Santos, R.V., Tasic, L., Fill, T.P. (2020): Virulence factors in the phytopathogen–host interactions: an overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68 (29) 7555-7570.p.
188. Pretari, A., Hoffmann, V., Tian, L. (2019): Post-harvest practices for afl atoxin control: Evidence from Kenya, *Stored Products*, 82 31-39. p.
189. Proctor, R. H., Van Hove, F., Susca, A., Stea, G., Busman, M., van der Lee, T., Waalwijk, C., Moretti, A., Ward, T. J. (2013): Birth, death and horizontal transfer of the fumonisin biosynthetic gene cluster during the evolutionary diversification of F usarium. *Molecular Microbiology*, 90 (2) 290-306. p.
190. Proietti, I., Frazzoli, C., Mantovani, A. (2015): Exploiting Nutritional Value of Staple Foods in the World’s Semi-Arid Areas: Risks, Benefits, Challenges and Opportunities of Sorghum. *Healthcare*, 3 (2) 172-193. p.
191. Prom, L.K., Isakeit, T. (2021): Diversity and frequency of fungal genera from sorghum lines inoculated with Alternaria alternata alone and in combination with Curvularia lunata and

- Fusarium thapsinum* in a field infected with anthracnose. *Journal of Agricultural and Crop Research*, 9 (11) 264-267.p.
192. Przybylska-Balcerek, A., Frankowski, J., Stuper-Szablewska, K. (2019): Bioactive compounds in sorghum. *European Food Research and Technology*, 245 1075-1080. p.
193. Puel, O., Galtier, P., Oswald, I. P. (2010): Biosynthesis and toxicological effects of patulin. *Toxins*, 2 (4) 613-631. p.
194. Rai, A., Das, M., Tripathi, A. (2020): Occurrence and toxicity of a fusarium mycotoxin, zearalenone. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (16) 2710-2729. p.
195. Rao, V., Girisham, S., Reddy, S.M. (2014): Influence of different species of *Penicillium* and their culture filtrates on seed germination and seedling growth of sorghum. *Journal of Biochemical Technology*, 5 (4) 832-837. p.
196. Raper, K.B., Thom, C. (1949): A manual of the *Penicillia*. A manual of the *Penicillia*. 875. p.
197. Reddy, K.R.N., Spadaro, D., Lore, A., Gullino, M.L., Garibaldi, A. (2010): Potential of patulin production by *Penicillium expansum* strains on various fruits. *Mycotoxin Research*, 26 257-265.p.
198. Reveglia, P., Cinelli, T., Cimmino, A., Masi, M., Evidente, A. (2018): The main phytotoxic metabolite produced by a strain of *Fusarium oxysporum* inducing grapevine plant declining in Italy. *Natural Product Research*, 32 (20) 2398-2407.p.
199. Riba, A., Bouras, N., Mokrane, S., Mathieu, F., Lebrihi, A., Sabaou, N. (2010): *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in Algerian wheat and derived products. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (10) 2772-2777.p.
200. Ritieni, A., Fogliano, V., Randazzo, G., Scarallo, A., Logrieco, A., Moretti, A., Mannina, L., Bottalico, A. (1995): Isolation and characterization of fusaproliferin, a new toxic metabolite from *Fusarium proliferatum*. *Natural toxins*, 3 (1) 17-20. p.
201. Rocha, O., Ansari, K., Doohan, F. N. (2005): Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review, *Food Additives and Contaminants*, 22 (4) 369-378. p.
202. Rodriguez-Herrera, R., Rooney, W.L., Frederiksen, D.T.R., Frederiksen, R.A. (2000): Inheritance of Grain Mold Resistance in Grain Sorghum without a Pigmented Testa. *Environmental Health Perspectives*, 109 239–243. p.
203. Rooney, W.L. (2014): Sorghum. *Cellulosic Energy Cropping Systems*, 109-129.p.
204. Rushing, B.R., Selim, M.I. (2019): Aflatoxin B1: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. *Food and Chemical Toxicology*, 124 81-100. p.

205. Safian, N., Naderi, M.R., Torabi, M., Soleymani, A., Salemi, H.R. (2022): Corn (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) yield and nutritional quality affected by drought stress. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 45 1-8. p.
206. Samson, R.A., Hadlok, R., Stolk, A. C. (1977): A taxonomic study of the *Penicillium chrysogenum* series. *Antonie van Leeuwenhoek*, 43 169-175. p.
207. Samson, R.A., Visagie, C.M., Houbraken, J., Hong, S.B., Hubka, V., Klaassen, C.H., Perrone, G., Seifert, K.A., Susca, A., Tanney, J.B., Varga, J., Kocsubé, S., Szigeti, G., Yaguchi, T., Frisvad, J. (2014): Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78 (1) 141-173.p.
208. Savignac, J. M., Atanasova, V., Chereau, S., Ducos, C., Gallegos, N., Ortega, V., Ponts, N., Richard-Forget, F. (2023): Carotenoids Occurring in Maize Affect the Redox Homeostasis of *Fusarium graminearum* and Its Production of Type B Trichothecene Mycotoxins: New Insights Supporting Their Role in Maize Resistance to *Giberella* Ear Rot. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71 (7) 3285-3296. p.
209. Savignac, J.M., Atanasova, V., Chéreau, S., Ortéga, V., Richard-Forget, F. (2022): Role of tocochromanols in tolerance of cereals to biotic stresses: Specific focus on pathogenic and toxigenic fungal species. *International Journal of Molecular Sciences*, 23 (16) 9303. p.
210. Sawant, A.M., Vankudoth, R., Navale, V., Kumavat, R., Kumari, P., Santhakumari, B., Vankudoth, K.R. (2019): Morphological and molecular characterization of *Penicillium rubens* sp. nov. isolated from poultry feed. *Indian Phytopathology*, 72 461-478. p.
211. Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., ...& White, M.M. (2012): Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109 (16) 6241-6246.p.
212. Schwartz-Zimmermann, H.E., Jurisic, N., Kunz-Vekiru, E., Moll, W.D., Schweiger, W., Fowler, J., Berthiller, F. (2019): Determination of aflatoxin biomarkers in excreta and ileal content of chickens, *Poultry Science*, 98 (11) 5551-5561. p.
213. Sebők, F., Dobolyi, C., Zágoni, D., Risa, A., Krifaton, C., Hartman, M., Cserhádi, M., Szoboszlay, S., Kriszt, B. (2016): Aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* strains in Hungarian maize fields. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 63 (4) 491-502. p.
214. Seifert, K.A., Aoki, T., Baayen, R.P., Brayford, D., Burgess, L.W., Chulze, S., Gams, W., Geiser, D., de Gruyter, J., Leslie, J.F., Logrieco, A., Marasas, W.F.O., Nirenberg, H.I., O'Donnell, K., Rheeder, J., Samuels, G.J., Summerell, B.A., Thrane, U., Waalwijk, C. (2003):

- The name *Fusarium moniliforme* should no longer be used. *Mycological Research*, 107 (6) 643-644. p.
215. Senatore, M. T., Ward, T. J., Cappelletti, E., Beccari, G., McCormick, S. P., Busman, M., Laraba, I., O'Donnell, K., and Prodi, A. (2021): Species diversity and mycotoxin production by members of the *Fusarium tricinctum* species complex associated with *Fusarium* head blight of wheat and barley in Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 358 109298. p.
216. Shahidi, F., Costa de Camargo, A. (2016): Tocopherols and Tocotrienols in Common and Emerging Dietary Sources: Occurance, Applications, and Health Benefits. *International Journal of Molecular Sciences*, 17 (1745) 1-29. p.
217. Sharma, R., Thakur, R.P., Senthilvel, S., Nayak, S., Reddy, S.V., Rao, V.P., Varshney, R.K. (2011): Identification and characterization of toxigenic *Fusaria* associated with sorghum grain mold complex in India. *Mycopathologia*, 171 223-230.p.
218. Snyder, W.C., Hansen, H.N. (1940): The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*, 64-67.p.
219. SORGHUM ID (2022): európai, szakmaközi cirokszervezet. <https://www.sorghum-id.com/hu/fooldal/> (Megtekintés időpontja: 2022. február 22.)
220. Ssepuuya, G., Van Poucke, C., Ediage, E.N, Mulholland, C., Tritscher, A., Verger, P., Kenny, M., Bessy, C., and De Saeger, S. (2018): Mycotoxin contamination of sorghum and its contribution to human dietary exposure in four sub-Saharan countries. *Food Additives & Contaminants*, 35 (7) 1384-1393. p.
221. Stępień, Ł. (2014): The use of *Fusarium* secondary metabolite biosynthetic genes in chemotypic and phylogenetic studies. *Critical Reviews in Microbiology*, 40 (2) 176–185. p.
222. Stępień, Ł., Koczyk, G., Waśkiewicz, A. (2013): Diversity of *Fusarium* species and mycotoxins contaminating pineapple. *Journal of Applied Genetics*, 54 367-380.p.
- 223.
224. , Ł., Waśkiewicz, A., Wilman, K. (2015): Host extract modulates metabolism and fumonisin biosynthesis by the plant-pathogenic fungus *Fusarium proliferatum*. *International Journal of Food Microbiology*, 193 74-81. p.
225. Strange, R.N. (2007): Phytotoxins produced by microbial plant pathogens. *Natural Product Reports*, 24 (1) 127-144.p.
226. Summerell, B. A., Salleh, B., Leslie, J. F. (2003): A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant disease*, 87 (2) 117-128. p.
227. Susca, A., Moretti, A., Stea, G., Villani, A., Haidukowski, M., Logrieco, A., Munkvold, G. (2014): Comparison of species composition and fumonisin production in *Aspergillus* section



- Nigri populations in maize kernels from USA and Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 188 75-82. p.
228. Susca, A., Stea, G., Mulé, G., Perrone, G. (2007): Polymerase chain reaction (PCR) identification of *Aspergillus niger* and *Aspergillus tubingensis* based on the calmodulin gene. *Food Additives and Contaminants*, 24 (10) 1154-1160. p.
229. Szécsi, Á., Szekeres, A., Bartók, T., Oros, G., Bartók, M. Mesterházy, Á. (2010): Fumonisin B1-4 producing capacity of Hungarian *Fusarium verticillioides* isolates. *World Mycotoxin Journal*, 3 (1) 67-76. p.
230. Torbati, M., Arzanlou, M., Sandoval-Denis, M., & Crous, P.W. (2019): Multigene phylogeny reveals new fungicolous species in the *Fusarium tricinctum* species complex and novel hosts in the genus *Fusarium* from Iran. *Mycological Progress*, 18 119-133. p.
231. Tóth, B., Török, O., Kótai, É., Varga, M., Toldiné Tóth, É., Pálfi, X., Háfra, E., Varga, J., Mesterházy, Á. (2012): Role of *Aspergilli* and *Penicillia* in mycotoxin contamination of maize in Hungary. *Acta Agronomica Hungarica*, 60 (2) 143-149. p.
232. Tsuge, T., Harimoto, Y., Akimitsu, K., Ohtani, K., Kodama, M., Akagi, Y., Egusa, M., Yamamoto, M. Otani, H. (2013): Host-selective toxins produced by the plant pathogenic fungus *Alternaria alternata*. *FEMS Microbiology Reviews*, 37 (1) 44-66.p.
233. U.S. Department of Agriculture, A. R. S. (2012). *USDA National Nutrient Database for Standard Reference* (25. kiadás). Washington, DC.
234. Ubrizsy G. (1965): *Növénykórtan II.* Akadémiai Kiadó, Budapest, 942 p., 789 p.
235. Udomkun P., Wiredu A. N., Nagle M., Müller J., Vanlauwe B., Bandyopadhyay R. (2017): Innovative technologies to manage aflatoxins in foods and feeds and the profitability of application – A review, *Food Control*, 76 127-138. p.
236. Uhlig, S., Jestoi, M., Parikka, P. (2007): *Fusarium avenaceum*—the North European situation. *International Journal of Food Microbiology*, 119 (1-2) 17-24. p.
237. Vankudoth, K. R., Sivadeveuni, G., & Reddy, S. M. (2015): Influence of different species of *Penicillium* and their culture filtrates on seed germination and seedling growth of sorghum. *Journal of Biochemical Technology*, 5 (4) 832-837. p.
238. Varga, E., Fodor, P., Sörös, Cs. (2021): Multi-mycotoxin LC-MS/MS method validation and its application to fifty-four wheat flours in Hungary. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 38 (4) 670-680. p.
239. Varga, J., Frisvad, J.C., Samson, R. (2011): Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. *Studies in Mycology*, 69 (1) 57-80. p.
240. Villani, A., Moretti, A., De Saeger, S., Han, Z., Di Mavungu, J.D., Soares, C.M., Proctor, R.H., Venancio, A., Lima, N., Stea, G., Pciolla, C., Logrieco, A.F., Susca, A. (2016): A

- polyphasic approach for characterization of a collection of cereal isolates of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. *International Journal of Food Microbiology*, 234 24-35.p.
241. Villani, A., Proctor, R.H., Kim, H.S., Brown, D.W., Logrieco, A.F., Amatulli, M.T., Moretti, A., Susca, A. (2019): Variation in secondary metabolite production potential in the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex revealed by comparative analysis of 13 genomes. *BMC Genomics*, 20 1-22.p.
242. Visagie, C.M., Houbraken, J., Frisvad, J.C., Hong, S.B., Klaassen, C.H.W., Perrone, G., Seifert, K.A., Varga, J., Yaguchi, T., Samson, R.A. (2014): Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78 (1) 343-371.p.
243. Vismer, H.F., Shephard, G.S., Van der Westhuizen, L., Mngqawa, P., Bushula-Njah, V., Leslie, J.F. (2019): Mycotoxins produced by *Fusarium proliferatum* and *F. pseudonygamai* on maize, sorghum and pearl millet grains in vitro. *International Journal of Food Microbiology*, 296 31-36.p.
244. Vogel, H. J. (1956). A convenient growth medium for *Neurospora* (Medium N). *Microbial Genet. Bull.*, 13, 42-43. p.
245. Wagener, R.E., Davis, N., Diener, U. (1980): Penitrem A and roquefortine production by *Penicillium commune*. *Applied and Environmental Microbiology*, 39 (4) 882-887. p.
246. Walton, J.D., & Panaccione, D.G. (1993): Host-selective toxins and disease specificity: perspectives and progress. *Annual review of phytopathology*, 31 (1) 275-303.p.
247. Wang E., Norred W.P., Bacon C.W., Riley R.T., Merrill Jr. A.H. (1991): Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins: implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. *Journal of Biological Chemistry*, 266 (22) 14486–14490.p.
248. Wang Y., Zheng W., Bian X., Yuan Y., Gu J., Liu X., Liu Z., Bian J. (2014a): Zearalenone induces apoptosis and cytoprotective autophagy in primary Leydig cells, *Toxicology Letters*, 226 (2) 182-191. p.
249. Wang, H., Ng, T.B. (1999): Pharmacological activities of fusaric acid (5-butylpicolinic acid). *Life Sciences*, 65 (9) 849-856.p.
250. Wang, H., Wei, H., Ma, J., Luo, X. (2000): The fumonisin B1 content in corn from North China, a high-risk area of esophageal cancer. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology: official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 19 (1-2) 139-141. p.
251. Wang, J.H., Zhang, J.B., Li, H.P., Gong, A.D., Xue, S., Agboola, R.S., Liao, Y.C. (2014b): Molecular identification, mycotoxin production and comparative pathogenicity of *Fusarium temperatum* isolated from maize in China. *Journal of Phytopathology*, 162 (3) 147-157.p.

252. Wang, L., Ge, S., Liang, W., Liao, W., Li, W., Jiao, G. A., Wei, X., Shao, G., Xie, L., Sheng, Z., Hu, S., Tang, S., Hu, P. (2022): Genome-wide characterization reveals variation potentially involved in pathogenicity and mycotoxins biosynthesis of *Fusarium proliferatum* causing spikelet rot disease in rice. *Toxins*, 14 (8) 568. p.
253. Wicklow, D. T., Wilson, D. M., & Nelsen, T. C. (1993). Survival of *Aspergillus flavus* sclerotia and conidia buried in soil in Illinois or Georgia. *PHYTOPATHOLOGY-NEW YORK AND BALTIMORE THEN ST PAUL*, 83 1141-1141. p.
254. Wild, C. P., Gong, Y. Y. (2010): Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*, 31 71–82. p.
255. Wilkinson, H.H.; Ramaswamy, A.; Sim, S.C.; Keller, N.P (2004): Increased conidiation associated with progression along the sterig-matocystin biosynthetic pathway. *Mycologia* 96 (6) 1190–1198. p.
256. Williams, R.J., Rao, K.N. (1981): A Review of Sorghum Grain Moulds. *Tropical Pest Management*, 27 (2) 200–211. p.
257. Wollenweber, H.W., Reinking, O.A. (1935): Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung, und Bekämpfung. Paul Parey, Berlin.
258. Wolpert, T.J., Dunkle, L.D., Ciuffetti, L.M. (2002): Host-selective toxins and avirulence determinants: what's in a name?. *Annual Review of Phytopathology*, 40 (1) 251-285.p.
259. Xiong Y., Zhang P., Warner R.D., and Fang Z. (2019a): Sorghum grain: From Genotype, Nutrition, and Phenolic Profile to Its Health Benefits and Food Applications. *Food Science and Food Safety*, 18 (6) 2025-2046. p.
260. Xiong, Y., Zhang, P., Luo, J., Johnson, S., Fang, Z. (2019b): Effect of processing on the phenolic contents, antioxidant activity and volatile compounds of sorghum grain tea. *Journal of Cereal Science*, 85 6-14. p.
261. Xu, D., Xue, M., Shen, Z., Jia, X., Hou, X., Lai, D., Zhou, L. (2021): Phytotoxic secondary metabolites from fungi. *Toxins*, 13 (4) 261.p.
262. Yang, J.Y., Wang, G.X., Liu, J.L., Fan, J.J., Cui, S. (2007): Toxic effects of zearalenone and its derivatives  $\alpha$ -zearalenol on male reproductive system in mice. *Reproductive Toxicology*, 24 (3-4) 381-387. p.
263. Yli-Mattila, T., Paavanen-Huhtala, S., Parikka, P., Konstantinova, P., Gagkaeva, T. Y. (2004): Molecular and morphological diversity of *Fusarium* species in Finland and north-western Russia. *European Journal of Plant Pathology*, 110 573-585. p.
264. Yu J., Chang, P.K., Ehrlich, K.C., Cary, J.W., Bhatnagar, D., Cleveland, T.E., Payne, G.A., Linz, J.E., Woloshuk C.P., Bennett, J.W. (2004): Clustered pathway genes in aflatoxin biosynthesis. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 1253-1262.p.

265. Yumbe-Guevara, B. E., Imoto, T., Yoshizawa, T. (2003): Effects of heating procedures on deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone levels in naturally contaminated barley and wheat. *Food additives and contaminants*, 20 (12) 1132-1140. p.
266. Zhao, Z.H., Lu, G.Z. (2008): *Fusarium sinensis* sp. nov., a new species from wheat in China. *Mycologia*, 100 746-751. p.
267. Zummo, N. (1984): Sorghum diseases in western Africa. Washington DC 20250. USA, USDA, USAID 32.p.

## 10.2. M2 – ZymoResearch MiniPrep DNS Kit leírása

ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep KIT:

A DNS kivonás folyamata:

1. A gomba micéliumait (100 mg) belehelyezem a ZR BashingBeas Lysis Tube-ba és 750 µl BashingBead Buffer-t adok hozzá.
2. Vortexeljük maximális erősségen 5 percig.
3. Centrifugába helyezzük és 1 percen keresztül 10.000 fordulatszámon centrifugáljuk.
4. A csövekből 400 µl felülúszót pipetázunk át a Zymo-Spin III-F Filter csőbe és ez alá gyűjtő csövet helyezünk.
5. Centrifugába helyezem és 1 percen keresztül 7.000 fordulatszámon centrifugálom.
6. 1200 µl Genomic Lysis Buffer-t helyezek az előbb használt gyűjtőcsőbe.
7. A gyűjtőcsővel egyberakott Zymo-Spin ICC Column filteres csövekbe 800 µl oldatot pipetázok át.
8. Ezt ismét centrifugába helyezem és 1 percen keresztül 10.000 fordulatszámon centrifugálom.
9. Ami a gyűjtőcsövekben összegyűlt kidobom és a 7. és 8. lépést megismétlem.
10. A Zymo-Spin IICR Column filteres csövekbe 200 µl DNA Pre-Wash Buffert helyezek.
11. Centrifugába teszem és 1 percen keresztül 10.000 fordulatszámon centrifugálom.
12. A gyűjtőcsőbe került folyadékot ismét kiöntöm.
13. A Zymo-Spin ICC Column filteres csövekbe 500 µl g-DNA Washing Buffer-t helyezem, majd ismét centrifugálom 1 percen keresztül 10.000 fordulatszámon.
14. A Zymo-Spin ICC Column csövet eppendorfba áthelyezem, pipetázom rá 50 µl DNA Elution Puffert, majd centrifugálom. A DNS-kivonatunk elkészülése után mélyhűtőbe tárolom, hogy a mintában lévő anyag ne bomoljon le.

### 10.3. M3 – NCBI adatbázisba feltöltött szekvenciák és azok elérési

14. táblázat: A szemes cirok szemtermésekről izolált és azonosított *Fusarium* fajok. A táblázat tartalmazza az agaróz gélben a PCR termék sorszámát (N°), az izolátum és DNS kódját (ID), a szemtermések származási helyét, amelyekről az adott gomba izolálásra került (származási hely), a származási hely és genotípus kódját, az azonosított fajt és az NCBI adatbázisához kapcsolódó elérési számot.

N°	ID	Származási hely	Származási hely és genotípus kódja	Faj	Referencia génbanki számok	NCBI elérési szám
1	INVT_036	Hedrehely	SL3	<i>F. sporotrichioides</i>	MH479894	OR424532
2	INVT_037	Hedrehely	SL3	<i>F. sporotrichioides</i>	MH479894	OR424533
4	INVT_039	Hedrehely	SL3	<i>F. sporotrichioides</i>	MH479894	OR424534
5	INVT_040	Gyékényes	SL2	<i>F. sporotrichioides</i>	MH479892	OR424535
6	INVT_041	Mezőberény	SN7	<i>F. cf. incarnatum</i>	KP126612	OR424536
7	INVT_042	Mezőhegyes	SN8	<i>F. sporotrichioides</i>	MN861801	OR424537
8	INVT_043	Gyékényes	SL2	<i>F. sporotrichioides</i>	MN183517	OR424538
9	INVT_044	Mezőhegyes	SN8	<i>F. sporotrichioides</i>	MN861801	OR424539
12	INVT_047	Gyékényes	SL2	<i>F. graminearum</i>	MN416025	OR424540
13	INVT_048	Gyékényes	SL2	<i>F. graminearum</i>	MN416025	OR424541
15	INVT_050	Hedrehely	SL3	<i>F. sporotrichioides</i>	MN183518	OR424542
16	INVT_051	Hedrehely	SL3	<i>F. sporotrichioides</i>	MH479894	OR424543
17	INVT_052	Mezőhegyes	SN8	<i>F. proliferatum</i>	KP769866	OR424544
18	INVT_053	Hedrehely	SL3	<i>F. sporotrichioides</i>	MH479894	OR424545
19	INVT_054	Gyékényes	SN2	<i>F. graminearum</i>	JX118852	OR424546
20	INVT_055	Mezőhegyes	SN8	<i>F. equiseti</i>	MT106643	OR424547

21	INVT_056	Gyékényes	SN2	<i>F. graminearum</i>	JX118852	OR424548
22	INVT_057	Gyékényes	SN2	<i>F. graminearum</i>	JX118852	OR424549
24	INVT_059	Hedrehely	SL3	<i>F. proliferatum</i>	MN861776	OR424550
27	INVT_062	Gyékényes	SL2	<i>F. graminearum</i>	JX118852	OR424551
28	INVT_063	Mezőhegyes	SN8	<i>F. proliferatum</i>	MN861776	OR424552
29	INVT_064	Mezőhegyes	SN8	<i>F. proliferatum</i>	MN861776	OR424553
30	INVT_065	Gyékényes	SL2	<i>F. graminearum</i>	MN416025	OR424554
32	INVT_067	Gyékényes	SL2	<i>F. graminearum</i>	MN416025	OR424555
33	INVT_068	Apátfalva	S2	<i>F. proliferatum</i>	MN861776	OR424556
34	INVT_069	Apátfalva	S2	<i>F. proliferatum</i>	MN861776	OR424557
35	INVT_070	Apátfalva	S2	<i>F. proliferatum</i>	MN861776	OR424558
37	INVT_072	Apátfalva	SL13	<i>F. proliferatum</i>	MN861776	OR424559
40	INVT_075	Nagyréde	SL9	<i>F. graminearum</i>	MN183381	OR424560
41	INVT_076	Apátfalva	S2	<i>F. equiseti</i>	MT158484	OR424561
42	INVT_077	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424562
43	INVT_078	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424563
44	INVT_079	Adács	SL1	<i>F. sporotrichioides</i>	MZ078869	OR424564
45	INVT_080	Adács	SL1	<i>F. sporotrichioides</i>	MZ078869	OR424565
46	INVT_081	Nagyréde	SL9	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424566
47	INVT_082	Nagyréde	SL9	<i>F. thapsinum</i>	MN228489	OR424567
48	INVT_083	Nagyréde	SL9	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424568
49	INVT_084	Adács	SN1	<i>F. sporotrichioides</i>	MZ078869	OR424569

51	INVT_086	Adács	SN1	<i>F. sporotrichioides</i>	MZ078869	OR424570
52	INVT_087	Adács	SN1	<i>F. proliferatum</i>	MT093676	OR424571
53	INVT_088	Adács	SN1	<i>F. cf. incarnatum</i>	MT036842	OR424572
54	INVT_089	Kapoly	SL5	<i>F. avenaceum</i>	MK111429	OR424573
55	INVT_090	Kapoly	SL5	<i>F. avenaceum</i>	MK111429	OR424574
56	INVT_091	Kapoly	SL5	<i>F. avenaceum</i>	MK111429	OR424575
57	INVT_092	Kapoly	SL5	<i>F. avenaceum</i>	MK111429	OR424576
58	INVT_093	Kapoly	SL5	<i>F. avenaceum</i>	MK111429	OR424577
59	INVT_094	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424578
61	INVT_096	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424579
62	INVT_097	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424580
63	INVT_098	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424581
64	INVT_099	Apátfalva	S3	<i>F. cf. incarnatum</i>	MZ404074	OR424582
65	INVT_100	Apátfalva	S3	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424583
68	INVT_103	Sárkeresztúr	SN10	<i>F. equiseti</i>	MT158484	OR424584
70	INVT_105	Mezőhegyes	SN8	<i>F. thapsinum</i>	MN200605	OR424585
71	INVT_106	Sárkeresztúr	SN10	<i>F. proliferatum</i>	MN784785	OR424586
72	INVT_107	Sárkeresztúr	SN10	<i>F. proliferatum</i>	MN784785	OR424587
74	INVT_109	Mezőberény	SL7	<i>F. equiseti</i>	MT158484	OR424588
75	INVT_110	Mezőberény	SL7	<i>F. cf. incarnatum</i>	MT036842	OR424589
76	INVT_111	Apátfalva	S4	<i>F. equiseti</i>	GQ848543	OR424590
78	INVT_113	Apátfalva	S3	<i>F. cf. incarnatum</i>	MZ404074	OR424591



<b>79</b>	INVT_114	Apátfalva	S2	<i>F. sporotrichioides</i>	MK836076	OR424592
<b>80</b>	INVT_115	Apátfalva	SN13	<i>F. avenaceum</i>	MK937121	OR424593
<b>81</b>	INVT_116	Apátfalva	SL13	<i>F. proliferatum</i>	MK061541	OR424594
<b>82</b>	INVT_117	Apátfalva	S1	<i>F. equiseti</i>	MH315936	OR424595
<b>83</b>	INVT_118	Törökszentmiklós	SL11	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424596
<b>84</b>	INVT_119	Mezőberény	SN7	<i>F. subglutinans</i>	MW402139	OR424597
<b>85</b>	INVT_120	Mezőberény	SN7	<i>F. subglutinans</i>	MW402139	OR424598
<b>86</b>	INVT_121	Mezőberény	SN7	<i>F. verticillioides</i>	MN861780	OR424599
<b>87</b>	INVT_122	Mezőberény	SN7	<i>F. verticillioides</i>	MN861780	OR424600
<b>88</b>	INVT_123	Mezőberény	SN7	<i>F. verticillioides</i>	MN861780	OR424601
<b>89</b>	INVT_124	Sárkeresztúr	SN10	<i>F. proliferatum</i>	MT093676	OR424602
<b>90</b>	INVT_125	Sárkeresztúr	SN10	<i>F. proliferatum</i>	MT093676	OR424603
<b>91</b>	INVT_126	Apátfalva	SL13	<i>F. sporotrichioides</i>	MH822032	OR424604
<b>92</b>	INVT_127	Hódmezővásárhely	SL4	<i>F. proliferatum</i>	MN784807	OR424605
<b>93</b>	INVT_128	Apátfalva	SN13	<i>F. verticillioides</i>	MW755824	OR424606
<b>94</b>	INVT_129	Hódmezővásárhely	SL4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424607
<b>95</b>	INVT_130	Mezőhegyes	SN8	<i>F. thapsinum</i>	MN228489	OR424608
<b>96</b>	INVT_131	Mezőhegyes	SN8	<i>F. thapsinum</i>	MN228489	OR424609
<b>97</b>	INVT_132	Apátfalva	SN13	<i>F. verticillioides</i>	MT237867	OR424610
<b>98</b>	INVT_133	Hódmezővásárhely	SL4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424611
<b>100</b>	INVT_135	Sárkeresztúr	SN10	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424612
<b>101</b>	INVT_136	Apátfalva	SN13	<i>F. proliferatum</i>	LT841245	OR424613

<b>102</b>	INVT_137	Apátfalva	SL13	<i>F. proliferatum</i>	MT093676	OR424614
<b>103</b>	INVT_138	Apátfalva	SN13	<i>F. proliferatum</i>	MH595518	OR424615
<b>104</b>	INVT_139	Apátfalva	SL13	<i>F. proliferatum</i>	MT093676	OR424616
<b>105</b>	INVT_140	Apátfalva	SL13	<i>F. proliferatum</i>	MK061541	OR424617
<b>106</b>	INVT_141	Apátfalva	S1	<i>F. proliferatum</i>	MN245720	OR424618
<b>107</b>	INVT_142	Apátfalva	S4	<i>F. verticillioides</i>	MZ404067	OR424619
<b>108</b>	INVT_143	Apátfalva	S4	<i>F. verticillioides</i>	MZ404067	OR424620
<b>109</b>	INVT_144	Törökszentmiklós	SN11	<i>F. verticillioides</i>	KT716241	OR424621
<b>110</b>	INVT_145	Törökszentmiklós	SN11	<i>F. verticillioides</i>	MW294189	OR424622
<b>111</b>	INVT_146	Apátfalva	SL13	<i>F. proliferatum</i>	LC480816	OR424623
<b>112</b>	INVT_147	Törökszentmiklós	SL11	<i>F. verticillioides</i>	KT716241	OR424624
<b>113</b>	INVT_148	Törökszentmiklós	SL11	<i>F. verticillioides</i>	KT716241	OR424625
<b>115</b>	INVT_150	Apátfalva	SL13	<i>F. proliferatum</i>	KT239489	OR424626
<b>116</b>	INVT_151	Apátfalva	S1	<i>F. proliferatum</i>	MN245720	OR424627
<b>117</b>	INVT_152	Mezőhegyes	SN8	<i>F. thapsinum</i>	MN228489	OR424628
<b>119</b>	INVT_154	Apátfalva	SN13	<i>F. proliferatum</i>	MK952792	OR424629
<b>120</b>	INVT_155	Apátfalva	SN13	<i>F. proliferatum</i>	MK952792	OR424630
<b>122</b>	INVT_157	Hódmezővásárhely	SL4	<i>F. proliferatum</i>	MT093676	OR424631
<b>123</b>	INVT_158	Apátfalva	S1	<i>F. proliferatum</i>	MK514042	OR424632
<b>124</b>	INVT_159	Apátfalva	S1	<i>F. proliferatum</i>	KP769866	OR424633
<b>125</b>	INVT_160	Hódmezővásárhely	SL4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424634
<b>126</b>	INVT_161	Hódmezővásárhely	SL4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424635

127	INVT_162	Apátfalva	S4	<i>F. equiseti</i>	MT158484	OR424636
128	INVT_163	Törökszentmiklós	SL11	<i>F. proliferatum</i>	MK952792	OR424637
129	INVT_164	Törökszentmiklós	SL11	<i>F. proliferatum</i>	MK952792	OR424638
130	INVT_165	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. thapsinum</i>	MN228489	OR424639
131	INVT_166	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. thapsinum</i>	MN228489	OR424640
133	INVT_168	Törökszentmiklós	SL11	<i>F. verticillioides</i>	MN689177	OR424641
135	INVT_170	Törökszentmiklós	SL11	<i>F. verticillioides</i>	MN689177	OR424642
136	INVT_171	Mezőhegyes	SN8	<i>F. thapsinum</i>	MN228489	OR424643
138	INVT_173	Apátfalva	S4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424644
139	INVT_174	Apátfalva	S1	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424645
140	INVT_175	Apátfalva	S1	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424646
141	INVT_176	Apátfalva	S4	<i>F. proliferatum</i>	LC529922	OR424647
142	INVT_007	Kapoly	SL5	<i>F. cf. incarnatum</i>	GQ339784	
143	INVT_008	Tüskevár	SL12	<i>F. cf. incarnatum</i>	GQ339784	
144	INVT_009	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. cf. incarnatum</i>	GU116582	
145	INVT_010	Mezőberény	SN7	<i>F. graminearum</i>	LT548460	
146	INVT_011	Tüskevár	SL12	<i>F. graminearum</i>	LT548460	
147	INVT_012	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. graminearum</i>	LT548460	
148	INVT_013	Mezőberény	SN7	<i>F. graminearum</i>	LT548460	
149	INVT_014	Mezőberény	SN7	<i>F. proliferatum</i>	MH383513	
150	INVT_015	Mezőhegyes	SL8	<i>F. proliferatum</i>	KP964906	
151	INVT_016	Mezőhegyes	SL8	<i>F. proliferatum</i>	MT379885	

<b>152</b>	INVT_017	Mezőhegyes	SL8	<i>F. proliferatum</i>	MH341214	
<b>153</b>	INVT_018	Mezőhegyes	SL8	<i>F. proliferatum</i>	MH341214	
<b>154</b>	INVT_019	Mezőberény	SN7	<i>F. proliferatum</i>	KT218533	
<b>155</b>	INVT_020	Kapoly	SL5	<i>F. proliferatum</i>	MN861776	
<b>156</b>	INVT_021	Mezőhegyes	SL8	<i>F. proliferatum</i>	KP964906	
<b>157</b>	INVT_022	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. proliferatum</i>	MN861776	
<b>158</b>	INVT_023	Kissomlyó	SN6	<i>F. proliferatum</i>	KP964906	
<b>159</b>	INVT_024	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. sporotrichioides</i>	OP715612	
<b>160</b>	INVT_025	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. sporotrichioides</i>	OP715612	
<b>161</b>	INVT_026	Kissomlyó	SN6	<i>F. sporotrichioides</i>	OP715612	
<b>162</b>	INVT_027	Mezőhegyes	SL8	<i>F. subglutinans</i>	MG826906	
<b>163</b>	INVT_028	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. verticillioides</i>	MN861768	
<b>164</b>	INVT_029	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. verticillioides</i>	OP574191	
<b>165</b>	INVT_030	Mezőberény	SN7	<i>F. verticillioides</i>	OK490382	
<b>166</b>	INVT_031	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. verticillioides</i>	MN861768	
<b>167</b>	INVT_032	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. verticillioides</i>	MN861768	
<b>168</b>	INVT_033	Mezőberény	SN7	<i>F. verticillioides</i>	MN861753	
<b>169</b>	INVT_034	Mezőhegyes	SL8	<i>F. verticillioides</i>	MN861768	
<b>170</b>	INVT_035	Hódmezővásárhely	SN4	<i>F. verticillioides</i>	KP340011	

15. táblázat: A szemes cirok szemtermésekről izolált és azonosított *Aspergillus* fajok. A táblázat tartalmazza az agaróz gélben futtatott PCR termék számát (N°), az izolátum és DNS kódját (ID), a szemtermések származási helyét, amelyekről az adott gomba izolálásra került (származási hely), a származási hely és genotípus kódját, az azonosított fajt és az NCBI adatbázisához kapcsolódó elérési számot.

N°	ID	Származási hely	Származási hely és genotípus kódja	Faj	Referencia génbanki szám	NCBI elérési szám
127	INVT_A001	Apátfalva	SL13	<i>A. flavus</i>	MK451369	OR424708
126	INVT_A002	Apátfalva	SL13	<i>A. flavus</i>	LR215864	OR424709
125	INVT_A003	Mezőhegyes	SL8	<i>A. flavus</i>	MK451369	OR424710
124	INVT_A004	Apátfalva	SL13	<i>A. flavus</i>	LR215899	OR424711
118	INVT_A005	Apátfalva	SN13	<i>A. flavus</i>	LR215864	OR424712
117	INVT_A006	Apátfalva	SL13	<i>A. flavus</i>	LR215899	OR424713
116	INVT_A007	Apátfalva	SL13	<i>A. flavus</i>	MK451369	OR424714
112	INVT_A008	Apátfalva	S1	<i>A. flavus</i>	MT001879	OR424715
111	INVT_A009	Apátfalva	S3	<i>A. flavus</i>	MK451380	OR424716
109	INVT_A010	Apátfalva	S4	<i>A. flavus</i>	MN986409	OR424717
105	INVT_A011	Apátfalva	SN13	<i>A. flavus</i>	MN986409	OR424718
100	INVT_A012	Mezőhegyes	SL8	<i>A. flavus</i>	MG826023	OR424719
99	INVT_A013	Adács	SN1	<i>A. flavus</i>	MN986407	OR424720
96	INVT_A014	Apátfalva	SL13	<i>A. oryzae</i>	MW117132	OR424721
94	INVT_A015	Apátfalva	SL13	<i>A. flavus</i>	MK451369	OR424722
93	INVT_A016	Hódmezővásárhely	SL4	<i>A. oryzae</i>	MW117132	OR424723
90	INVT_A017	Nagyréde	SN9	<i>A. flavus</i>	MG826023	OR424724
84	INVT_A018	Kapoly	SL5	<i>A. flavus</i>	MG826047	OR424725

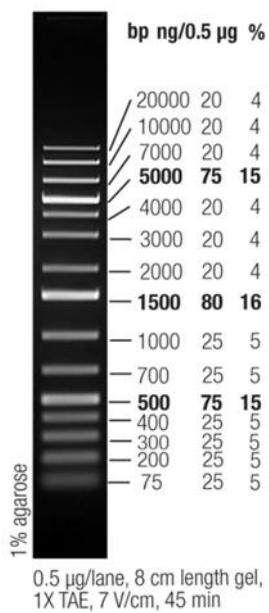
83	INVT_A019	Apátfalva	SN13	<i>A. flavus</i>	MG826023	OR424726
82	INVT_A020	Apátfalva	SN13	<i>A. flavus</i>	LR215864	OR424727
67	INVT_A023	Tüskevár	SL12	<i>A. flavus</i>	MT001879	OR424728

16. táblázat: A szemes cirok szemtermésekről izolált és azonosított *Penicillium* fajok. A táblázat tartalmazza az izolátum és DNS kódját (ID), a szemtermések származási helyét, amelyekről az adott gomba izolálásra került (származási hely), a származási hely és genotípus kódját, az azonosított fajt és az NCBI adatbázisához kapcsolódó elérési számot.

N°	ID	Származási hely	Származási hely és genotípus kódja	Faj	Referencia génbanki elérési szám	NCBI elérési szám
106	INVT_P001	Mezőhegyes	SN8	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424648
101	INVT_P002	Hódmezővásárhely	SL4	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424649
98	INVT_P003	Mezőberény	SL7	<i>P. hordei</i>	OQ144921	OR424650
88	INVT_P004	Kissomlyó	SL6	<i>P. rubens</i>	MN402476	OR424651
87	INVT_P005	Kissomlyó	SL6	<i>P. rubens</i>	MN402476	OR424652
85	INVT_P006	Kapoly	SL5	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424653
81	INVT_P007	Apátfalva	SN13	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424654
78	INVT_P008	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424655
77	INVT_P009	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424656
76	INVT_P010	Kissomlyó	SN6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424657
75	INVT_P011	Kissomlyó	SL6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424658
74	INVT_P012	Kissomlyó	SL6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424659
73	INVT_P013	Kissomlyó	SL6	<i>P. polonicum</i>	MH708218	OR424660
72	INVT_P014	Kissomlyó	SL6	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424661
71	INVT_P015	Kissomlyó	SL6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424662
70	INVT_P016	Kissomlyó	SL6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424663
69	INVT_P017	Sárkeresztúr	SN10	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424664
64	INVT_P018	Kissomlyó	SL6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424665
62	INVT_P019	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424666
61	INVT_P020	Sárkeresztúr	SN10	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424667
60	INVT_P021	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424668
59	INVT_P022	Kissomlyó	SL6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424669
58	INVT_P023	Kissomlyó	SL6	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424670
54	INVT_P024	Sárkeresztúr	SN10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424671
53	INVT_P025	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424672
50	INVT_P026	Sárkeresztúr	SN10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424673
49	INVT_P027	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424674
47	INVT_P028	Kissomlyó	SL6	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424675
46	INVT_P029	Kissomlyó	SN6	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424676
43	INVT_P030	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424677
42	INVT_P031	Sárkeresztúr	SN10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424678
41	INVT_P032	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424679
40	INVT_P033	Kissomlyó	SL6	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424680

37	INVT_P034	Kissomlyó	SL6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424681
36	INVT_P035	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424682
35	INVT_P036	Kissomlyó	SL6	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424683
33	INVT_P037	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424684
28	INVT_P038	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424685
27	INVT_P039	Kissomlyó	SL6	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424686
26	INVT_P040	Kissomlyó	SL6	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424687
25	INVT_P041	Kissomlyó	SN6	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424688
24	INVT_P042	Kissomlyó	SN6	<i>P. hordei</i>	OQ144921	OR424689
23	INVT_P043	Tüskevár	SL12	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424690
20	INVT_P044	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424691
15	INVT_P045	Kissomlyó	SL6	<i>P. hordei</i>	OQ144921	OR424692
14	INVT_P046	Kissomlyó	SL6	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424693
13	INVT_P047	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424694
12	INVT_P048	Kissomlyó	SN6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424695
9	INVT_P049	Sárkeresztúr	SL10	<i>P. rubens</i>	MT210457	OR424696
91	INVT_P050	Nagyréde	SN9	<i>P. allii</i>	MT122170	OR424697
66	INVT_P051	Kissomlyó	SL6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424698
65	INVT_P052	Kissomlyó	SL6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424699
45	INVT_P053	Kissomlyó	SL6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424700
32	INVT_P054	Kissomlyó	SN6	<i>P.4 allii</i>	MT122170	OR424701
30	INVT_P055	Hedrehely	SL3	<i>P. crustosum</i>	MW928614	OR424702
22	INVT_P056	Sárkeresztúr	SN10	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424703
18	INVT_P057	Sárkeresztúr	SN10	<i>P. allii</i>	MT122170	OR424704
6	INVT_P058	Sárkeresztúr	SN10	<i>P. allii</i>	MT122170	OR424705
4	INVT_P059	Kissomlyó	SN6	<i>P. chrysogenum</i>	MT210455	OR424706
3	INVT_P060	Gyékényes	SN2	<i>P. allii</i>	MT122170	OR424707

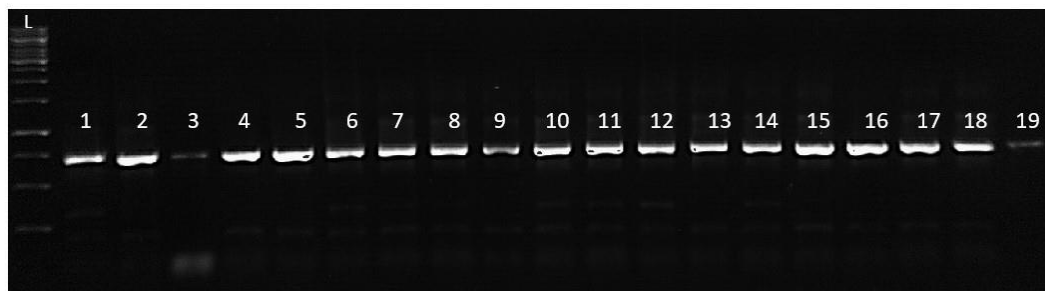
#### 10.4. M4 – Thermo Fisher Scientific 1kb DNA Ladder



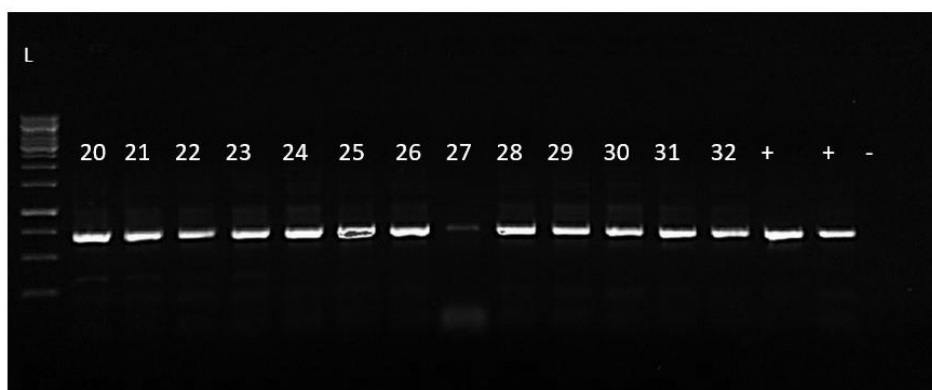
37. ábra: 1kb Plus DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific, 1%-os agaróz gélben megfuttatva, 1X TAE Bufferrel, 8 cm-es gélben, 7V/cm futtatási sebességgel 45 perces futtatási idővel. (Forrás: Thermo Fisher Scientific)



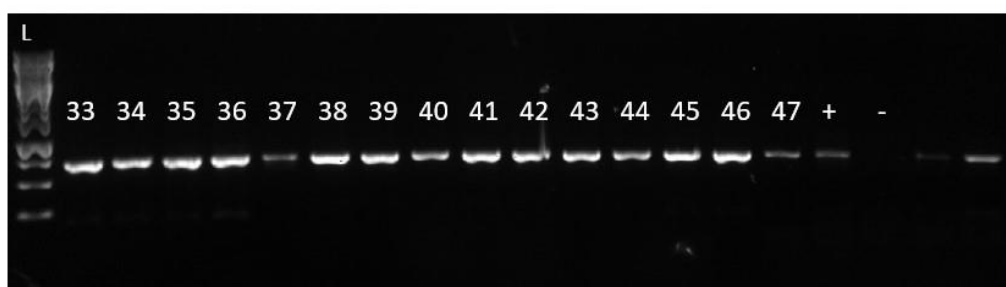
## 10.5. M5 – Agaróz gél fotók – PCR reakciók



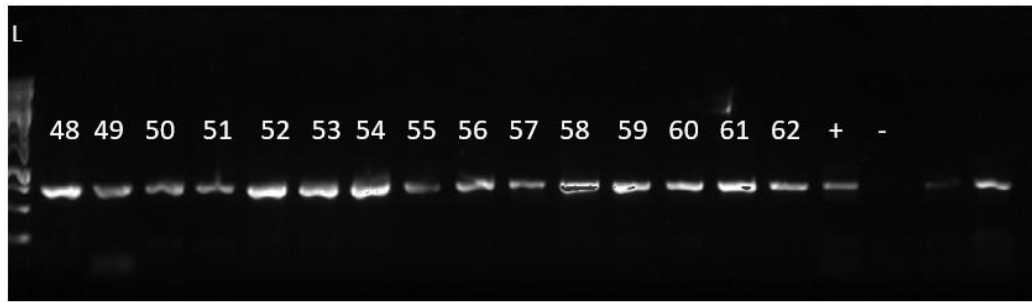
38. ábra: *TEF-1 $\alpha$*  (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (EF1/EF2) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 1-19-es mintákban. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp.



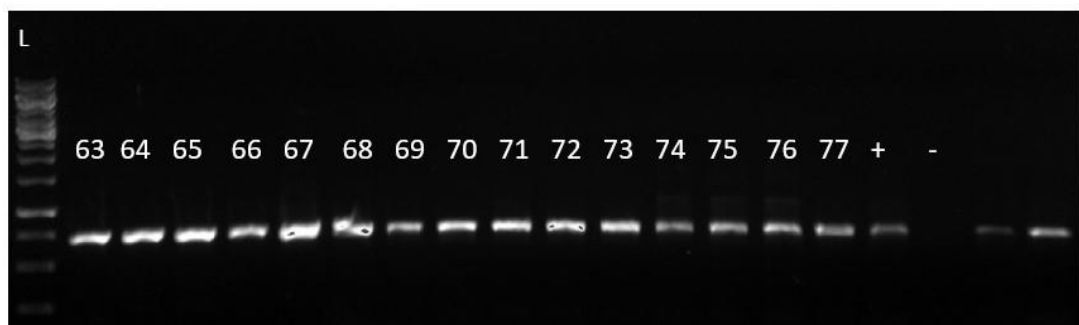
39. ábra: *TEF-1 $\alpha$*  (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (EF1/EF2) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 20-32-es mintákban. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak, a 15. ábrán szereplő agaróz géllal azonos amplifikációban.



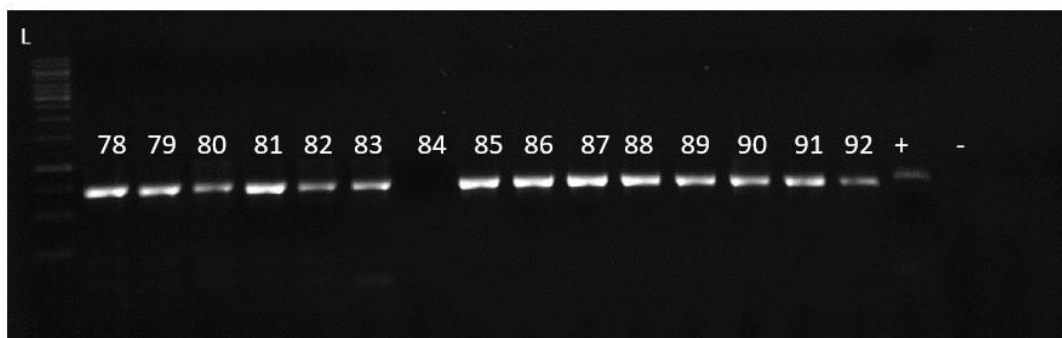
40. ábra: *TEF-1 $\alpha$*  (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (EF1/EF2) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 33-47-es mintákban. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



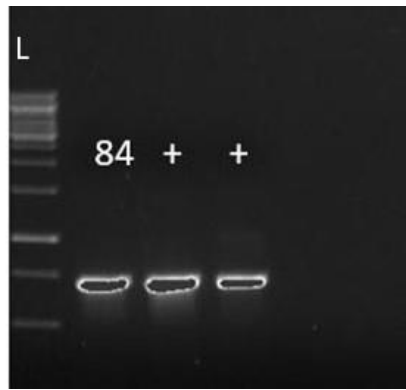
41. ábra: *TEF-1 $\alpha$*  (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (EF1/EF2) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 48-62-es mintákban. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



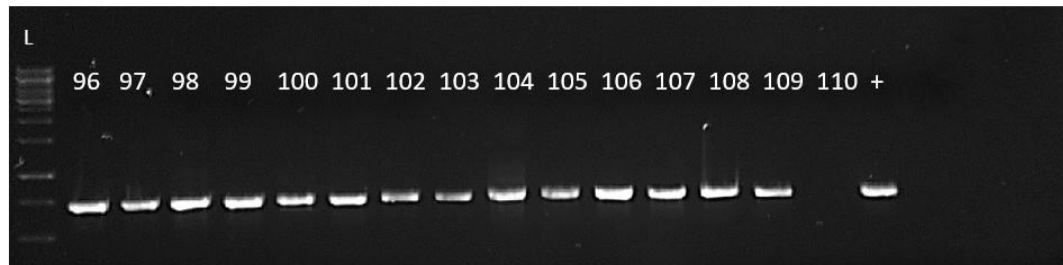
42. ábra: *TEF-1 $\alpha$*  (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (EF1/EF2) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 63-77-es mintákban. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



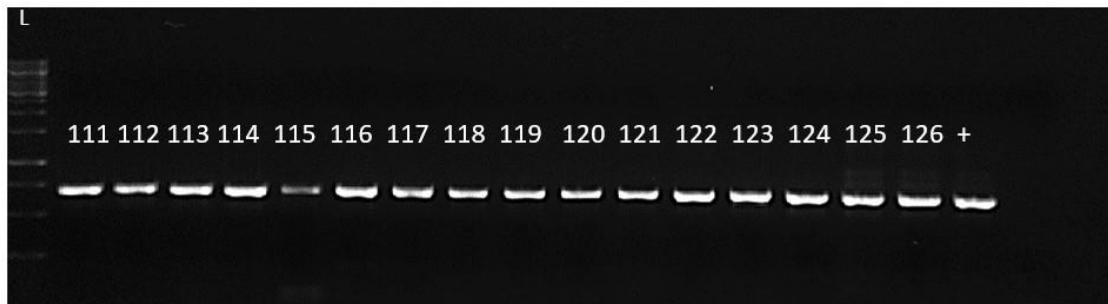
43. ábra: *TEF-1 $\alpha$*  (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (EF1/EF2) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 78-92-es mintákban. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



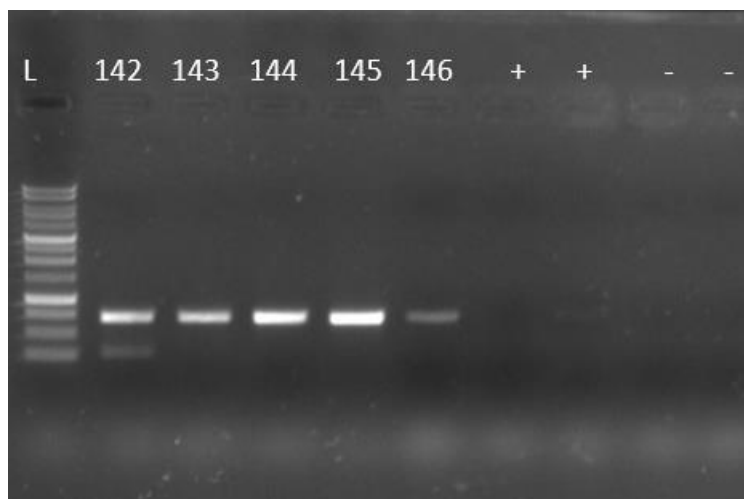
44. ábra: *TEF-1 $\alpha$*  (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (*EF1/EF2*) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 84-es minta esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



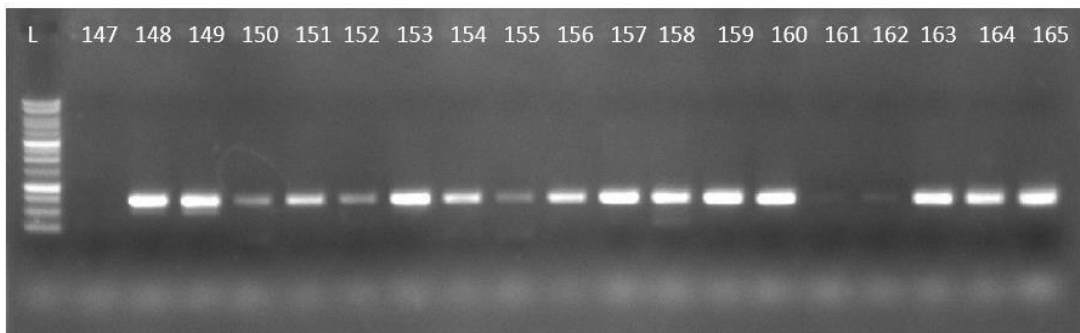
45. ábra: *TEF-1 $\alpha$*  (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (*EF1/EF2*) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 96-110-es minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



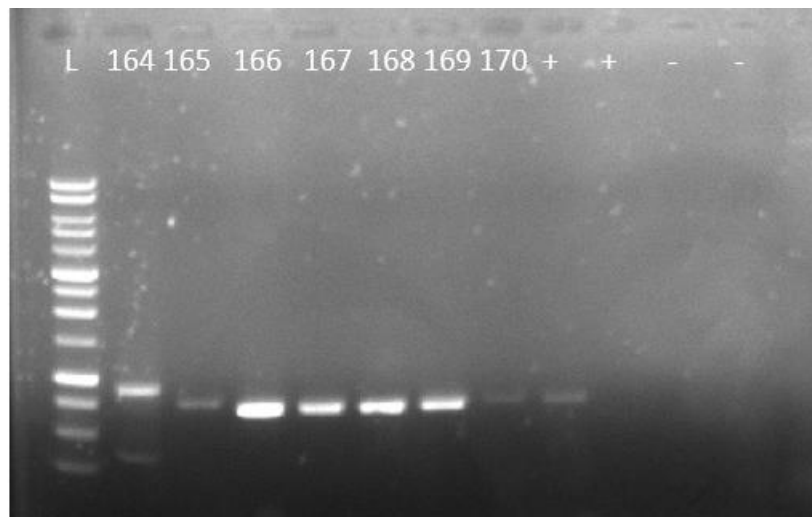
46. ábra: *TEF-1 $\alpha$*  (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (*EF1/EF2*) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 127-141-es minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



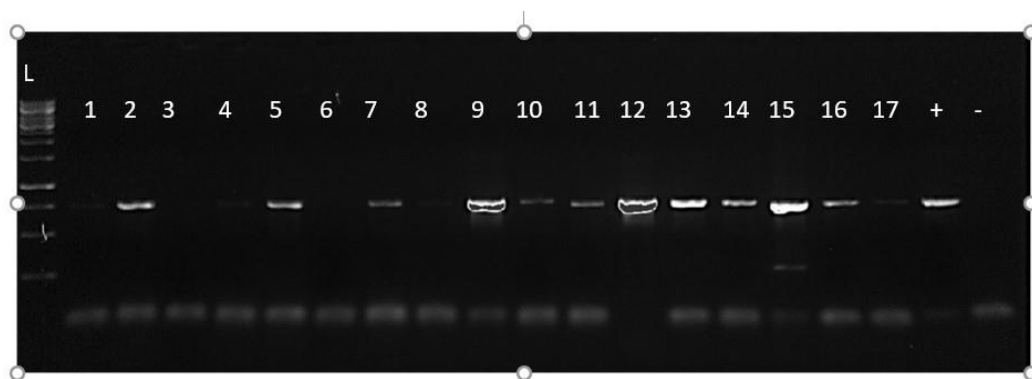
47. ábra: *TEF-1 $\alpha$*  (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (*EF1/EF2*) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 142-146-os minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták az INRAE MycSA törzsgyűjteményéből származnak



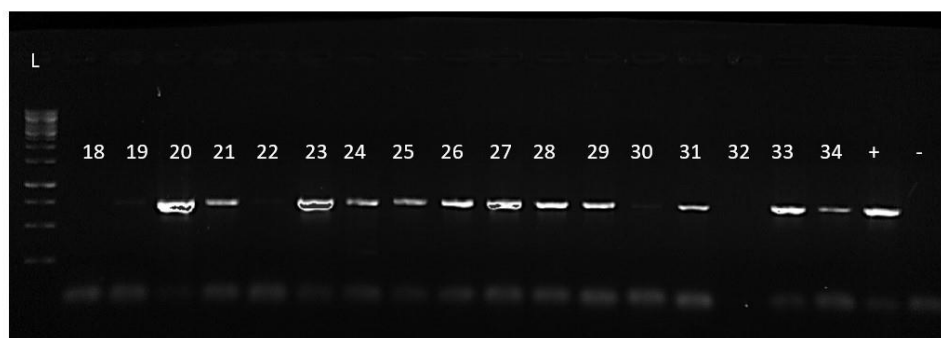
48. ábra: *TEF-1 $\alpha$*  (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (*EF1/EF2*) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 147-165-ös minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták az INRAE MycSA törzsgyűjteményéből származnak



49. ábra: *TEF-1α* (transzlációs elongációs faktor) primer párokkal (EF1/EF2) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 164-170-es minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 700 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták az INRAE *MycSA* törzsgyűjteményéből származnak

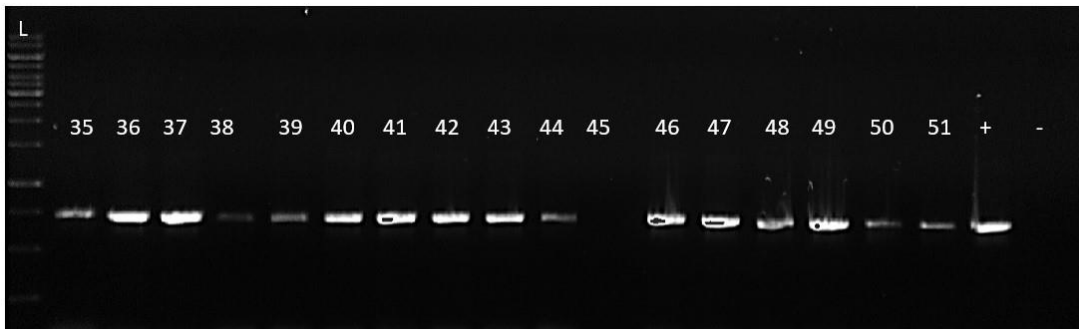


50. ábra: *CaM* (kalmodulin) génre specifikus primer párokkal (CL1/CL2A) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 1-17-es minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 688 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak

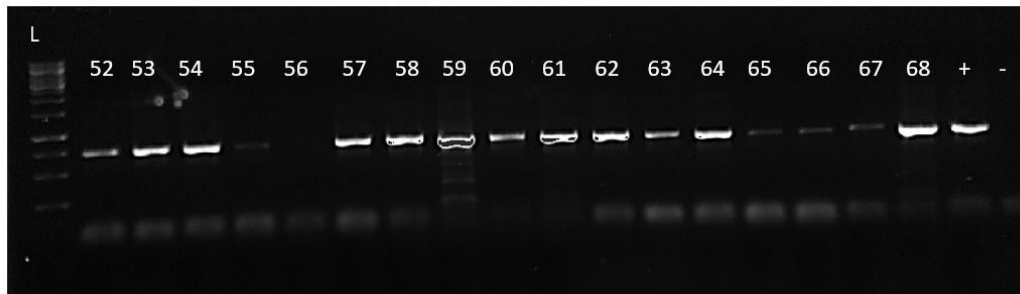


51. ábra: *CaM* (kalmodulin) génre specifikus primer párokkal (CL1/CL2A) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a

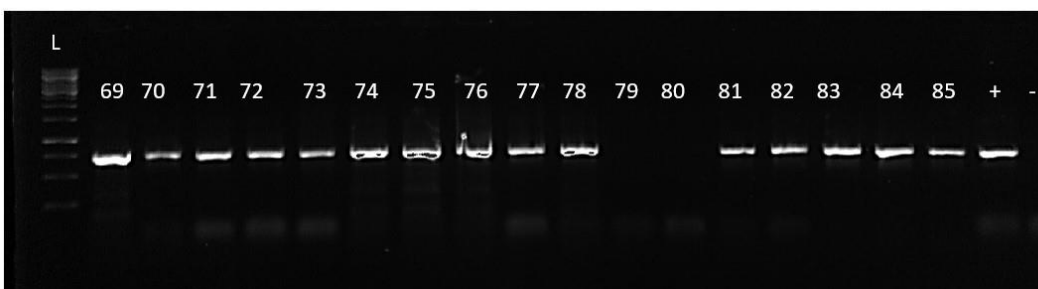
18-34-es minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 688 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



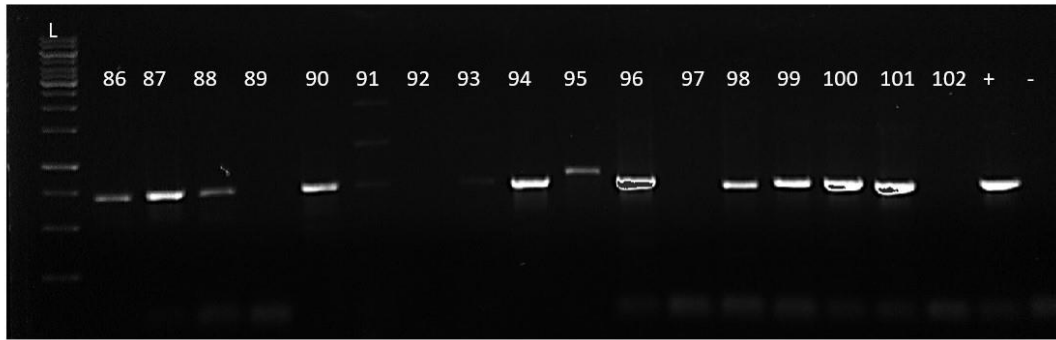
52. ábra: CaM (kalmodulin) génre specifikus primer párokkal (CL1/CL2A) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 35-51-es minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 688 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



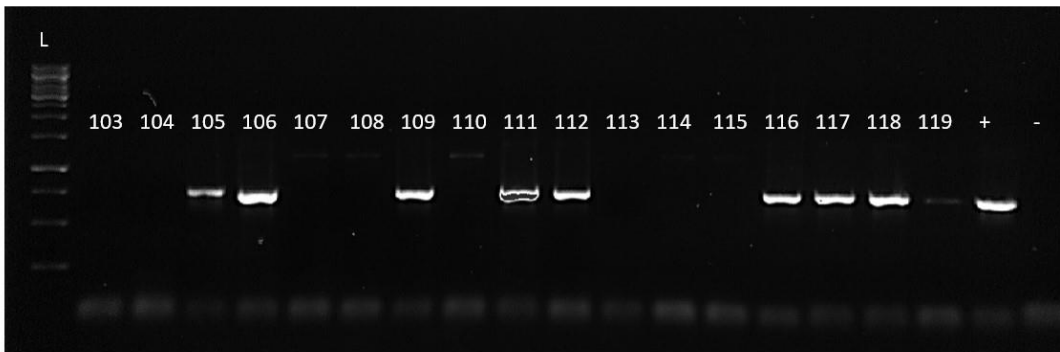
53. ábra: CaM (kalmodulin) génre specifikus primer párokkal (CL1/CL2A) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 52-68-as minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 688 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



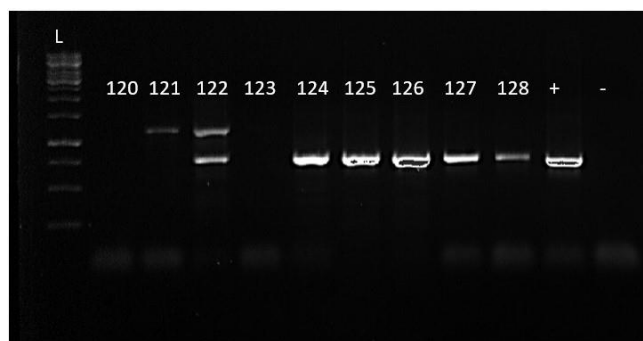
54. ábra: CaM (kalmodulin) génre specifikus primer párokkal (CL1/CL2A) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 69-85-ös minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 688 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



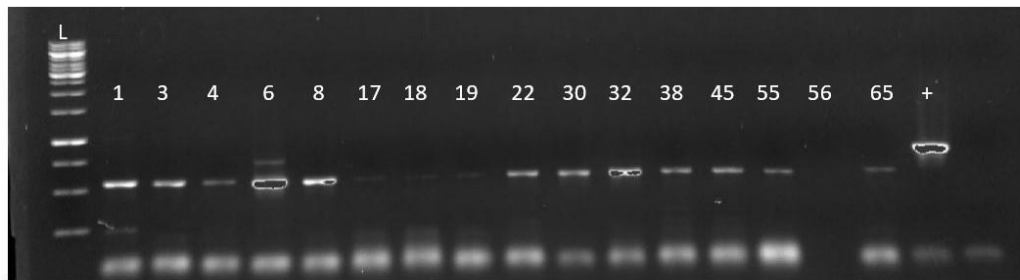
55. ábra: CaM (kalmodulin) génre specifikus primer párokkal (CL1/CL2A) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 86-102-es minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 688 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



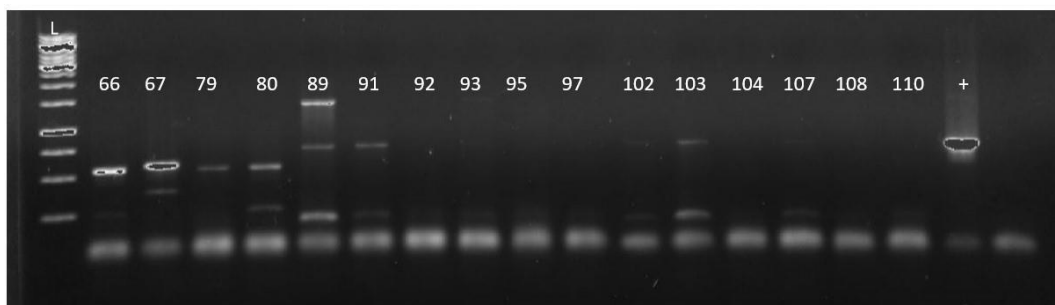
56. ábra: CaM (kalmodulin) génre specifikus primer párokkal (CL1/CL2A) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 103-119-es minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 688 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



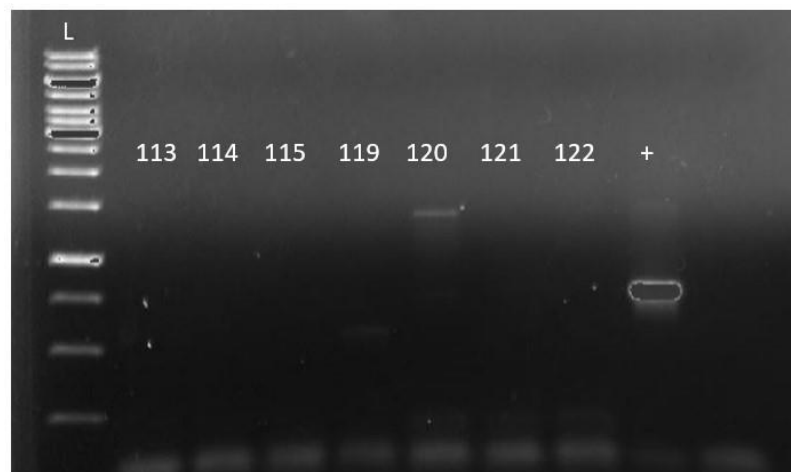
57. ábra: CaM (kalmodulin) génre specifikus primer párokkal (CL1/CL2A) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 120-128-as minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 688 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak



58. ábra: CaM (kalmodulin) génre specifikus primer párokkal (cmd5/cmd6) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 1,3,5,6,8,17,18,19,22,30,32,38,45,55,56,65-ös minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 580 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak

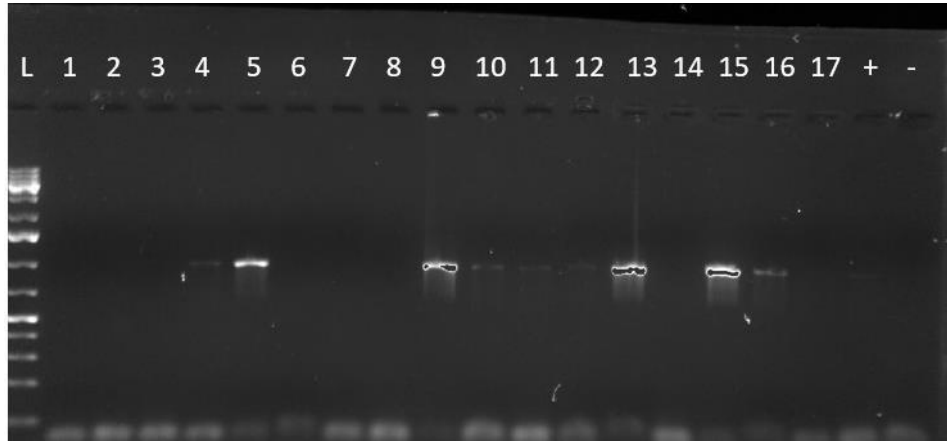


59. ábra: CaM (kalmodulin) génre specifikus primer párokkal (cmd5/cmd6) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 66,67,79,80,89,91,92,93,95,97,102,103,104,107,108,110-es minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 580 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak

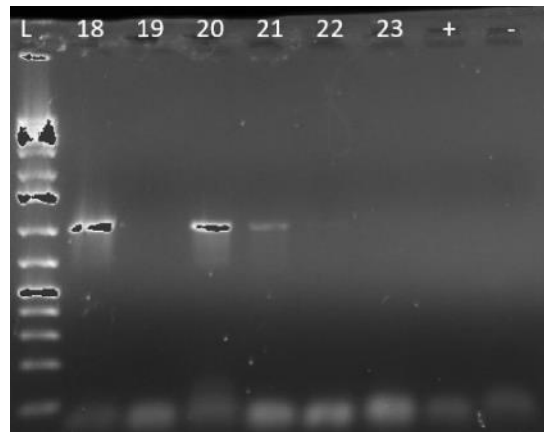


60. ábra: CaM (kalmodulin) génre specifikus primer párokkal (cmd5/cmd6) kapott PCR-termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel a 113,114,115,119,120,121,122-es minták esetében. 1 kb Plus GeneRuler DNS létrával (Thermo Fisher Scientific). A várható amplifikációs termék ~ 580 bp, pozitív és negatív kontrollal. A pozitív kontroll minták a MATE NVI Integrált Növényvédelmi Intézet törzsgyűjteményéből származnak

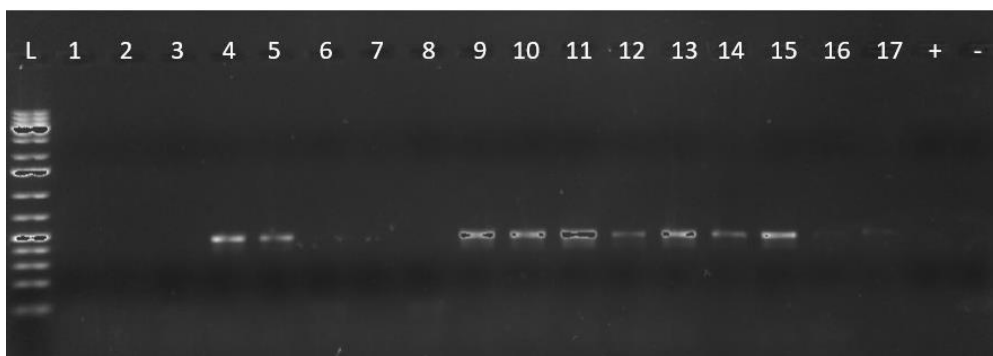




61. ábra: Az *AfID* génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 1-17-es mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 852 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia.

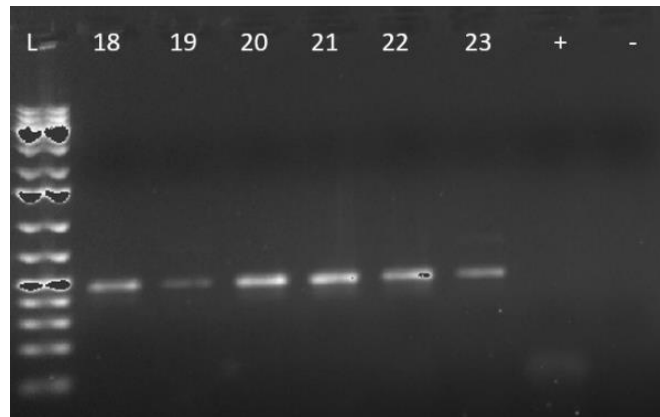


62. ábra: Az *AfID* génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 18-23-as mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 852 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia.

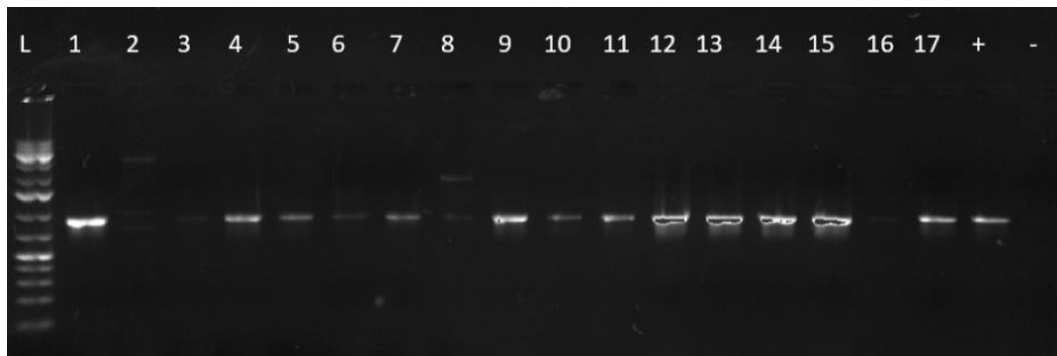


63. ábra: Az *AfIM* génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 1-17-es mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval

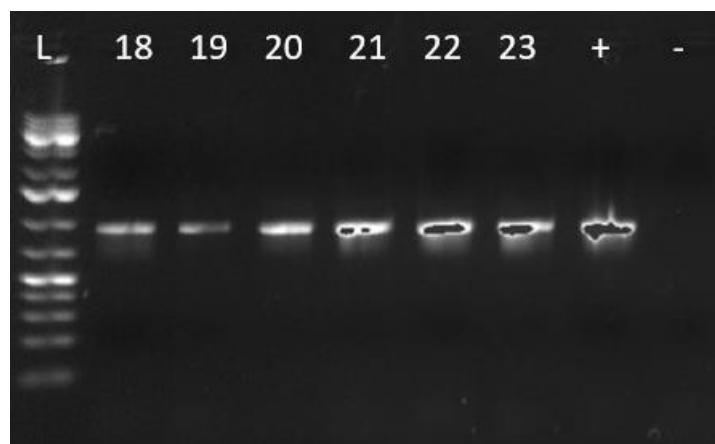
(L). A várható amplifikációs termék 470 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia.



64. ábra: Az AfIM génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 18-23-as mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 470 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia.

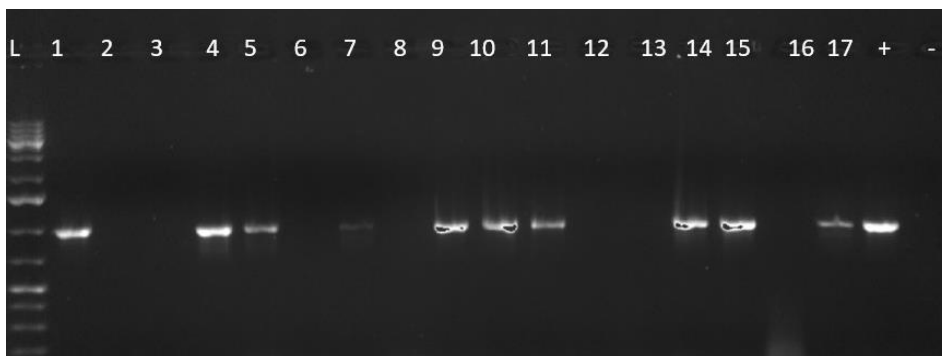


65. ábra: Az AfLO génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 1-17-es mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 790 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia.

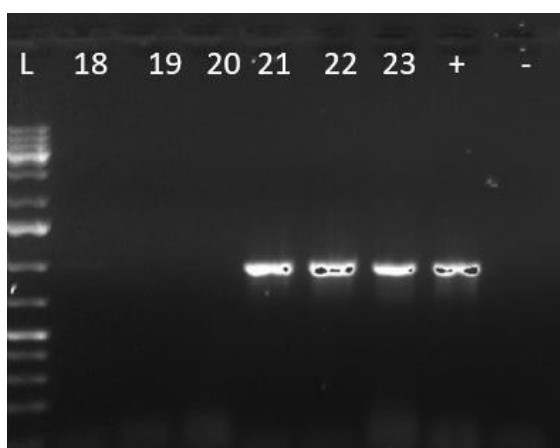


66. ábra: Az AfLO génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 18-23-as mintában,

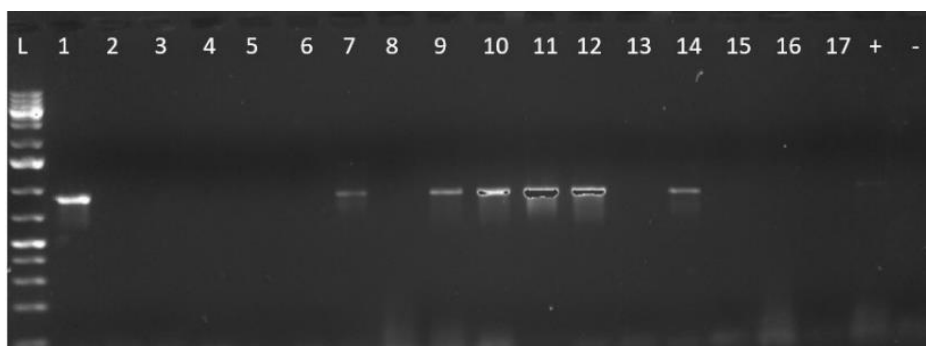
pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 790 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia.



67. ábra: Az AflP génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 1-17-es mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 870 bp.

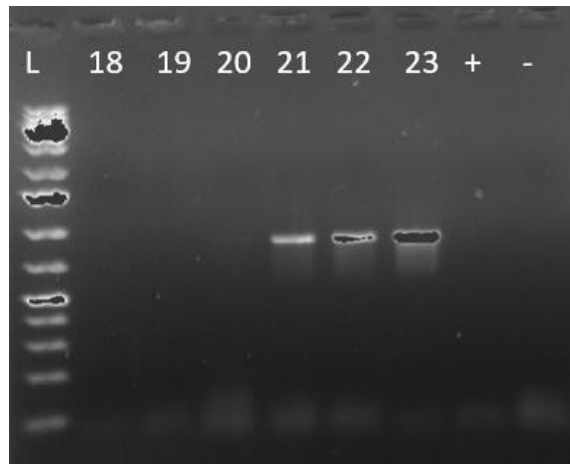


68. ábra: Az AflP génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 18-23-as mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 870 bp.

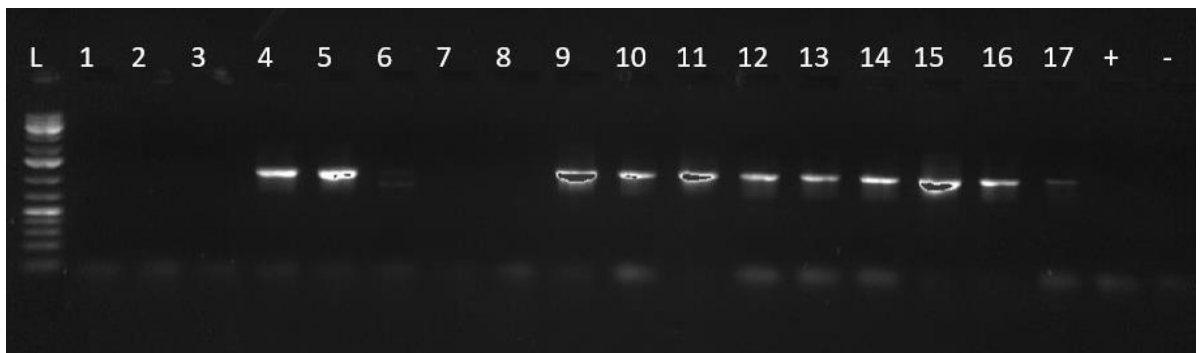


69. ábra: Az AflQ génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 1-17-es mintában,

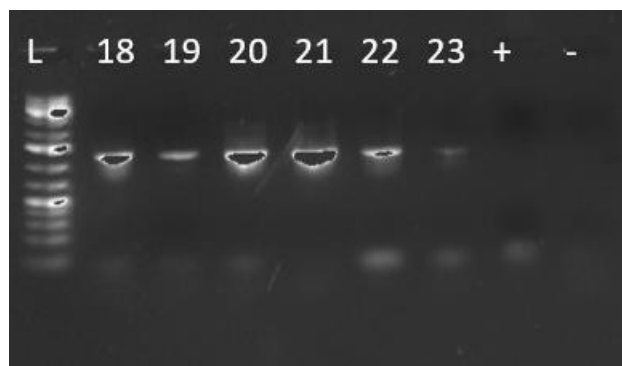
pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 757 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia



70. ábra: Az AflQ génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 18-23-as mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 757 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia.



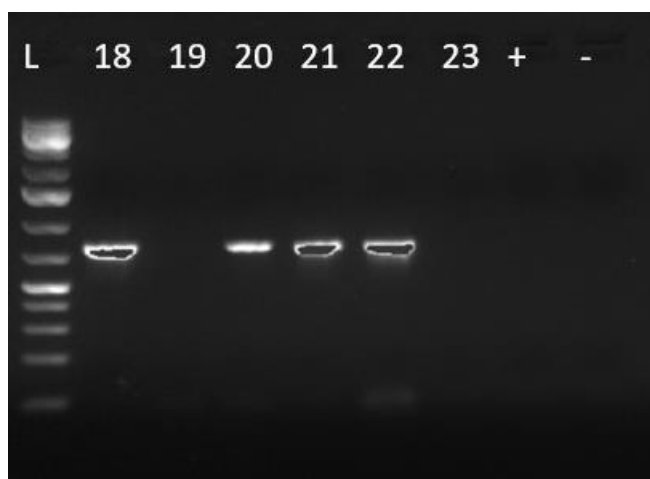
71. ábra: Az AflR génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 1-17-es mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 1079 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia



72. ábra: Az AflR génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 1-17-es mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 1079 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia



73. ábra: Az *AflS* génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 1-17-es mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 684 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia



74. ábra: Az *AflS* génre specifikus primer párokkal kapott PCR termékek 1%-os agaróz gélben, 45 perces futtatási idővel, 10X TBE bufferrel, micéliumos izolátumokból kinyert DNS-sel az 1-17-es mintában, pozitív és negatív kontrollal. 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) indikációval (L). A várható amplifikációs termék 684 bp. A pozitív kontroll esetében nem amplifikálódott a célszekvencia

## 10.6. M6 – Statisztikai számítások eredményei

17. táblázat: Szemtermések belső fertőzöttségének statisztikai eredményei az 1-es genotípus esetében 2021-ben a különböző termőhelyek függvényében. Az adatok összehasonlítását ANOVA teszttel végeztük, a szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Analysis of variance (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values significati on codes
Model	11,000	564,692	51,336	11,915	<b>&lt;0,0001</b>	***
Error	108,000	465,300	4,308			
Corrected	119,000	1029,992				

Computed against model  $Y=Mean(Y)$

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

Model parameters (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	Value	Standard error	t	Pr >  t	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)	p-values significati on codes
Intercept	0,300	0,656	0,457	0,649	-1,001	1,601	°
Hely-SL1	4,000	0,928	4,309	<b>&lt;0,0001</b>	2,160	5,840	***
Hely-SL10	1,600	0,928	1,724	0,088	-0,240	3,440	.
Hely-SL11	8,300	0,928	8,941	<b>&lt;0,0001</b>	6,460	10,140	***
Hely-SL12	0,500	0,928	0,539	0,591	-1,340	2,340	°
Hely-SL2	2,700	0,928	2,909	<b>0,004</b>	0,860	4,540	**
Hely-SL3	1,200	0,928	1,293	0,199	-0,640	3,040	°
Hely-SL4	3,900	0,928	4,201	<b>&lt;0,0001</b>	2,060	5,740	***
Hely-SL5	2,100	0,928	2,262	<b>0,026</b>	0,260	3,940	*
Hely-SL6	3,100	0,928	3,340	<b>0,001</b>	1,260	4,940	**
Hely-SL7	1,800	0,928	1,939	0,055	-0,040	3,640	.
Hely-SL8	0,300	0,928	0,323	0,747	-1,540	2,140	°
Hely-SL9	0,000	0,000					

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

18. táblázat: Szemtermések belső fertőzöttségének statisztikai eredményei az 2-es genotípus esetében 2021-ben a különböző termőhelyek függvényében. Az adatok összehasonlítását ANOVA teszttel végeztük, a szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Analysis of variance (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values significati on codes
Model	11,000	143,225	13,020	4,312	<b>&lt;0,0001</b>	***
Error	108,000	326,100	3,019			
Corrected	119,000	469,325				

Computed against model  $Y = \text{Mean}(Y)$

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

Model parameters (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	Value	Standard error	t	Pr >  t	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)	p-values significati on codes
Intercept	0,500	0,549	0,910	0,365	-0,589	1,589	°
Hely-SL1	2,800	0,777	3,603	<b>0,000</b>	1,260	4,340	***
Hely-SL10	3,100	0,777	3,989	<b>0,000</b>	1,560	4,640	***
Hely-SL11	2,000	0,777	2,574	<b>0,011</b>	0,460	3,540	*
Hely-SL12	-0,500	0,777	-0,643	0,521	-2,040	1,040	°
Hely-SL2	0,700	0,777	0,901	0,370	-0,840	2,240	°
Hely-SL3	1,200	0,777	1,544	0,125	-0,340	2,740	°
Hely-SL4	0,800	0,777	1,029	0,306	-0,740	2,340	°
Hely-SL5	0,200	0,777	0,257	0,797	-1,340	1,740	°
Hely-SL6	0,800	0,777	1,029	0,306	-0,740	2,340	°
Hely-SL7	0,000	0,777	0,000	1,000	-1,540	1,540	°
Hely-SL8	1,800	0,777	2,316	<b>0,022</b>	0,260	3,340	*
Hely-SL9	0,000	0,000					

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

19. táblázat: Szemtermések belső fertőzöttségének statisztikai eredményei a 2022-es szemes cirok minták esetében származási hely és genotípus alapján. Az adatok összehasonlítását ANOVA teszttel végeztük, a szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Analysis of variance (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values significati on codes
Model	5,000	58,283	11,657	4,090	<b>0,003</b>	**
Error	54,000	153,900	2,850			
Corrected	59,000	212,183				

Computed against model  $Y=Mean(Y)$

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

Model parameters (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	Value	Standard error	t	Pr >  t	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)	p-values significati on codes
Intercept	4,100	0,534	7,680	<b>&lt;0,0001</b>	3,030	5,170	***
Hely-S1	-1,900	0,755	-2,517	<b>0,015</b>	-3,414	-0,386	*
Hely-S2	-0,100	0,755	-0,132	0,895	-1,614	1,414	°
Hely-S3	0,700	0,755	0,927	0,358	-0,814	2,214	°
Hely-S4	-1,000	0,755	-1,325	0,191	-2,514	0,514	°
Hely-SL13	1,000	0,755	1,325	0,191	-0,514	2,514	°
Hely-SN13	0,000	0,000					

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

20. táblázat: Szemtermések belső fertőzöttségének statisztikai eredményei a 2021-es 1-es genotípusú szemes cirok minták esetében nemzetség alapján. Az adatok összehasonlítását ANOVA teszttel végeztük, a szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Analysis of variance (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values significati on codes
Model	2,000	261,706	130,853	36,355	<b>&lt;0,0001</b>	***
Error	357,000	1284,958	3,599			
Corrected Total	359,000	1546,664				

Computed against model  $Y=Mean(Y)$

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

Model parameters (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	Value	Standard error	t	Pr >  t	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)	p-values significati on codes
Intercept	0,542	0,173	3,128	<b>0,002</b>	0,201	0,882	**
Genus-Aspergillus	-0,425	0,245	-1,735	0,084	-0,907	0,057	.
Genus-Fusarium	1,558	0,245	6,362	<b>&lt;0,0001</b>	1,077	2,040	***
Genus-Penicillium	0,000	0,000					

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1



21. táblázat: Szemtermések belső fertőzöttségének statisztikai eredményei a 2021-es 2-es genotípusú szemes cirok minták esetében nemzetség alapján. Az adatok összehasonlítását ANOVA teszttel végeztük, a szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Analysis of variance (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values significati on codes
Model	2,000	94,850	47,425	36,732	<b>&lt;0,0001</b>	***
Error	357,000	460,925	1,291			
Corrected Total	359,000	555,775				

Computed against model  $Y = \text{Mean}(Y)$

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

Model parameters (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	Value	Standard error	t	Pr >  t	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)	p-values significati on codes
Intercept	0,308	0,104	2,973	<b>0,003</b>	0,104	0,512	**
Genus-Aspergillus	-0,275	0,147	-1,875	0,062	-0,563	0,013	.
Genus-Fusarium	0,925	0,147	6,306	<b>&lt;0,0001</b>	0,637	1,213	***
Genus-Penicillium	0,000	0,000					

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

22. táblázat: Szemtermések belső fertőzöttségének statisztikai eredményei a 2022-e szemes cirok minták esetében nemzetség alapján. Az adatok összehasonlítását ANOVA teszttel végeztük, a szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Analysis of variance (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values significati on codes
Model	2,000	370,178	185,089	166,115	<b>&lt;0,0001</b>	***
Error	177,000	197,217	1,114			
Corrected Total	179,000	567,394				

Computed against model  $Y = \text{Mean}(Y)$

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

Model parameters (Fertőzött\_szemtermések\_száma):

Source	Value	Standard error	t	Pr >  t	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)	p-values significati on codes
Intercept	0,150	0,136	1,101	0,273	-0,119	0,419	°
Genus-Aspergillus	0,267	0,193	1,384	0,168	-0,114	0,647	°
Genus-Fusarium	3,167	0,193	16,432	<b>&lt;0,0001</b>	2,786	3,547	***
Genus-Penicillium	0,000	0,000					

Signification codes: 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

23. táblázat: Statisztikai adatok a zeaxantin esetében a száraz biomasszára gyakorolt hatására vonatkozóan. Az adatok nem normális eloszlásúak voltak (Shapiro-Wilk normalitás teszt), az adatok összehasonlítását (kontroll vs. kezelt) Mann-Whitney teszttel (páratlan teszt) végeztük. A szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Summary statistics:

Variable	Observations	Obs. with missing	Obs. without	Minimum	Maximum	Mean	Std. deviation
Control	3	0	3	2,500	3,500	2,867	0,551
ZEAX	3	0	3	2,000	3,500	2,867	0,777

Mann-Whitney test / Two-tailed test:

U	4
U (standardized)	0,000
Expected value	4,500
Variance (U)	5,250
p-value (Two-tailed)	1,000
alpha	0,05

The p-value is computed using an exact method. Time elapsed: 0s.

24. táblázat: Statisztikai adatok a lutein esetében a száraz biomasszára gyakorolt hatására vonatkozóan. Az adatok nem normális eloszlásúak voltak (Shapiro-Wilk normalitás teszt), az adatok összehasonlítását

(kontroll vs. kezelt) Mann-Whitney teszttel (páratlan teszt) végeztük. A szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Summary statistics:

Variable	Observations	Obs. with missing	Obs. without	Minimum	Maximum	Mean	Std. deviation
Control	3	0	3	2,500	3,500	2,867	0,551
LUT	3	0	3	2,100	5,400	3,767	1,650

Mann-Whitney test / Two-tailed test:

U	3
U (standardized)	0,000
Expected value	4,500
Variance (U)	5,250
p-value (Two-tailed)	0,700
alpha	0,05

The p-value is computed using an exact method. Time elapsed: 0s.

25. táblázat: Statisztikai adatok az  $\alpha$ -tokoferol esetében a száraz biomasszára gyakorolt hatására vonatkozóan. Az adatok nem normális eloszlásúak voltak (Shapiro-Wilk normalitás teszt), az adatok összehasonlítását (kontroll vs. kezelt) Mann-Whitney teszttel (páratlan teszt) végeztük. A szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Summary statistics:

Variable	Observations	Obs. with missing	Obs. without	Minimum	Maximum	Mean	Std. deviation
Control	3	0	3	2,500	3,500	2,867	0,551
AT	3	0	3	0,200	15,100	6,133	7,900

Mann-Whitney test / Two-tailed test:

U	4
U (standardized)	0,000
Expected value	4,500
Variance (U)	5,250
p-value (Two-tailed)	1,000
alpha	0,05

The p-value is computed using an exact method. Time elapsed: 0s.

26. táblázat: Statisztikai adatok a  $\gamma$ -tokoferol esetében a száraz biomasszára gyakorolt hatására vonatkozóan. Az adatok nem normális eloszlásúak voltak (Shapiro-Wilk normalitás teszt), az adatok

összehasonlítását (kontroll vs. kezelt) Mann-Whitney teszttel (páratlan teszt) végeztük. A szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Summary statistics:

Variable	Observations	Obs. with missing	Obs. without	Minimum	Maximum	Mean	Std. deviation
Control	3	0	3	2,500	3,500	2,867	0,551
GT	3	0	3	1,600	3,500	2,600	0,954

Mann-Whitney test / Two-tailed test:

U	4,500
U (standardized)	0,000
Expected value	4,500
Variance (U)	5,100
p-value (Two-tailed)	0,800
alpha	0,05

The p-value is computed using an exact method. Time elapsed: 0s.

27. táblázat: Statisztikai adatok a zeaxantin esetében a fumonizin bioszintézisre gyakorolt hatására vonatkozóan. Az adatok nem normális eloszlásúak voltak (Shapiro-Wilk normalitás teszt), az adatok összehasonlítását (kontroll vs. kezelt) Mann-Whitney teszttel (páratlan teszt) végeztük. A szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Summary statistics:

Variable	Observations	Obs. with missing	Obs. without	Minimum	Maximum	Mean	Std. deviation
Control	3	0	3	22,800	7094,000	3624,831	3537,472
ZEAX	3	0	3	18,286	10094,500	5487,380	5093,110

Mann-Whitney test / Two-tailed test:

U	4
U (standardized)	0,000
Expected value	4,500
Variance (U)	5,250
p-value (Two-tailed)	1,000
alpha	0,05

The p-value is computed using an exact method. Time elapsed: 0s.

28. táblázat: Statisztikai adatok a lutein esetében a fumonizin bioszintézisre gyakorolt hatására vonatkozóan. Az adatok nem normális eloszlásúak voltak (Shapiro-Wilk normalitás teszt), az adatok

összehasonlítását (kontroll vs. kezelt) Mann-Whitney teszttel (páratlan teszt) végeztük. A szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Summary statistics:

Variable	Observati ons	Obs. with missing	Obs. without	Minimum	Maximum	Mean	Std. deviation
Control	3	0	3	22,800	7094,000	3624,831	3537,472
LUT	3	0	3	0,000	0,000	0,000	0,000

Mann-Whitney test / Two-tailed test:

U	9
U (standardized)	1,855
Expected value	4,500
Variance (U)	4,650
p-value (Two-tailed)	0,064
alpha	0,05

The exact p-value could not be computed. An approximation has been used to compute the p-value.

29. táblázat: Statisztikai adatok az  $\alpha$ -tokoferol esetében a fumonizin bioszintézisre gyakorolt hatására vonatkozóan. Az adatok nem normális eloszlásúak voltak (Shapiro-Wilk normalitás teszt), az adatok összehasonlítását (kontroll vs. kezelt) Mann-Whitney teszttel (páratlan teszt) végeztük. A szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Summary statistics:

Variable	Observati ons	Obs. with missing	Obs. without	Minimum	Maximum	Mean	Std. deviation
Control	3	0	3	22,800	7094,000	3624,831	3537,472
AT	3	0	3	15,695	2544,194	919,963	1409,640

Mann-Whitney test / Two-tailed test:

U	7
U (standardized)	0,000
Expected value	4,500
Variance (U)	5,250
p-value (Two-tailed)	0,400
alpha	0,05

The p-value is computed using an exact method. Time elapsed: 0s.

30. táblázat: Statisztikai adatok a  $\gamma$ -tokoferol esetében a fumonizin bioszintézisre gyakorolt hatására vonatkozóan. Az adatok nem normális eloszlásúak voltak (Shapiro-Wilk normalitás teszt), az adatok

összehasonlítását (kontroll vs. kezelt) Mann-Whitney teszttel (páratlan teszt) végeztük. A szignifikancia szintet  $p \leq 0,05$ -re állítottuk be.

Summary statistics:

Variable	Observations	Obs. with missing	Obs. without	Minimum	Maximum	Mean	Std. deviation
Control	3	0	3	22,800	7094,000	3624,831	3537,472
GT	3	0	3	1261,714	6575,000	3495,448	2755,777

Mann-Whitney test / Two-tailed test:

U	5
U (standardized)	0,000
Expected value	4,500
Variance (U)	5,250
p-value (Two-tailed)	1,000
alpha	0,05

The p-value is computed using an exact method. Time elapsed: 0s.

## 11. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Körösi Katalin témavezetőmnek, aki nem csak szakmailag, hanem emberileg is irányt mutatott az elmúlt évek során, nélküle ez a doktori munka soha nem születhetett volna meg. Továbbá köszönöm a több éves kalandokkal, szakmai kihívásokkal teli közös munkát.

Köszönettel tartozom Dr. Kiss József professzor úrnak, hogy lehetővé tette, hogy a doktori munkámat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Integrált Növényvédelmi Tanszékén végezhettem, külön köszönettel tartozom a tanszék munkatársainak az emberi, szakmai segítségért. Külön köszönettel tartozom Nagy Andreának, aki a adminisztratív feladatok útvesztőjében mindig a segítségemre volt.

Hálásan köszönöm a Bordeaux-i National Research Institute for Agriculture, Food and the Environment (INRAE) Mycology and Food Safety (MycSA) laboratórium összes munkatársának, különösképpen Florence Forget-nak, nélkülük a doktori munka nem jöhetett volna létre.

Külön szeretném kifejezni köszönetemet a rengeteg szakmai segítségért Marczika Andrásné Dr. Sörös Csillának a mikotoxin-szennyezettség vizsgálatok során nyújtott szakmai segítségéért.

Szeretném köszönetemet kifejezni a hallgatóimnak – Molnár Klaudiának, Vlaskality Sárának, Kőműves Katának, Papp Márknak, Frisch Norbertnek – az alázatos, segítőkész munkájukért.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm családomnak és barátaimnak, akik végigkísértek ezen a rögös ám de csodálatos úton, köszönöm a támogatást, Ti vagytok a legjobbak.