

A PENÉSZGOMBÁK SZAPORODÁSÁRA ÉS MIKOTOXIN TERMELÉSÉRE HATÓ TÉNYEZŐK A GABONA TÁROLÁSA SORÁN, ÉS A MEGJELENŐ TÖRZSEK AZONOSÍTÁSI MÓDSZEREI

Nyéki Ágnes-Peles Ferenc Árpád-Győriné Mile Irma

Debreceni Egyetem Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,
Élelmiszertudományi, Minőségbiztosítási és Mikrobiológiai Intézet
gyorffi@agr.unideb.hu

KULCSSZAVAK: GABONA, TÁROLÁS, PENÉSZGOMBÁK
KEYWORDS: GRAIN, STORAGE, MOLDS

ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban mind többször javasolják a teljes kiőrlésű gabonaőrlemények fogyasztását. Ezzel viszont megnő a kockázata, hogy szántóföldi és raktári penészekkel, valamint az azok által termelt toxinokkal szennyezett termék kerül fogyasztásra.

A gabonafélék a magyar szántóterület kétharmadát foglalják el. A legnagyobb élelmiszer- és takarmánybiztonsági problémát a *Fusarium* fajok jelentik. A fő problémát a mikotoxinok okozzák, melyek a táplálékláncba bekerülve közegészségügyi kockázatot jelentenek. Ezen kívül napjainkban számolni kell a globális felmelegedés hatásaival is, melyek különböző módon befolyásolhatják a mikrobás szennyeződés.

Ebben a cikkben megpróbáltam összegezni a klímaváltozás hatásait a penészgombákra, a penészgombák szaporodására és mikotoxin termelésére ható tényezőket, valamint az azonosításra használható módszereket.

SUMMARY

Nowadays, it is often suggested that, we should eat products made with whole grain cereals, despite of the fact that it raises the risk of consuming wheat products infected by mold and their toxins originated from the plough-lands and the stocks.

Two third of the cultivated fields in Hungary are planted with cereals. The most alarming problem for food and feed security is caused by the *Fusarium* species. The greatest problem of all is caused by the mycotoxins. When they get into the food chain they can be a serious threat to public health. In addition, we have to face up to the problem of the effects of global warming that influence the growth of microbial infections in different ways.

In this article I tried to summarize the effect of climate change on molds, the factors which have effect on growing and mycotoxin producing of molds and the identification methods of molds.

KLÍMAVÁLTOZÁS

Napjainkban a globális felmelegedés hatásaival is számolni kell a szántóföldi termesztés során. Főbb, hazánkra is kiható következményei között meg kell említeni az élelmiszerek és takarmányok várhatóan fokozódó mikrobás szennyeződését (CSL, 2005). Számos kutató szerint a globális felmelegedés egyik hatása a melegkedvelő aflatoxintermelő fajok elterjedése lehet a mérsékelt éghajlatokon, és a termés fogékonyabbá válhat a mikrobiális szennyeződésekre (Cotty és Jaime-Garcia, 2007; Paterson és Lima, 2010). Az éghajlatváltozás következménye lehet szárazság és a rovarkártétel okozta stressz fokozódása, mely elősegítheti a mikotoxin termelő gombák kolonizációját, és a termények mikotoxinnal való szennyeződését (Farkas és Beczner, 2009). A hazai mezőgazdaság esetén a gabonafélék, a fűszerpaprika, az alma- és szőlőtermesztés igényel nagy figyelmet a mikotoxin-probléma szempontjából (Farkas és Beczner, 2009). Elképzelhető, hogy a melegebb és nagyobb nedvességtartalmú környezet hatására lehet a hazánkban termesztett és tárolt gabonákban is aflatoxint kimutatni (Kovács, 2010). Dobolyi és mtsai (2011) 101, különböző hazai területről származó kukoricaminta penészgomba fertőzöttségét vizsgálták. A véletlenül kiválasztott 10-10 szem leoltást végeztek el táptalajra. A minták 65,3%-ából kitenyészett, sárgászöld telepű penészgomba izolátumokat az *Aspergillus* nemzetség *Flavi* szekciójába sorolták. Valamennyi hazai kukoricáról származó izolátum az *Aspergillus flavus* fajba volt sorolható. Minden régióban 50%-ot meghaladó fertőzöttséget találtak.

ÖKOLÓGIA-TÁROLÁS

Vesonder és mtsai (1982) megfigyelték, hogy a *F. graminearum* és a *F. culmorum* törzsek deoxinivalenol (DON) produkciójához az optimális hőmérséklet nedves (30%-os), tört kukoricán 29-30°C és 25-26°C volt. Az inkubációs idő függvényében a minimálisan szükséges hőmérséklet a DON produkciójához 11°C volt. Magan és Lacey (1984) megállapították a *F. culmorum*, *poae*, *avenaceum* és *tricinctum* számára az optimális növekedéshez szükséges hőmérsékletet és vízakтивitást. Az optimális növekedési hőmérséklet 20-25°C között volt, a szélső értékek pedig az 5-10°C és 35°C voltak. Az optimális vízakтивitási érték a gombák számára 0,995-0,98-ig terjedt. Hope és mtsai (2005) kísérletükben kimutatták, hogy a *F. culmorum* és *F. graminearum* 25°C-on nagyobb növekedési rátát mutatott, mint 15°C-on. *F. culmorum* esetében 25°C-on 0,995-0,98 terjedt az optimális növekedéshez szükséges vízakтивitási érték. A *F. graminearum* szaporodásának optimális feltétele 25°C-on a 0,995 vízakтивitási érték volt. A DON produkció 0,995 és 0,95 közötti vízakтивitási érték mellett történt, és 25°C-on tízszer több toxin termelődött, mint 15°C-on.

Veres és mtsai (2002) vizsgálták a tárolási feltételek hatását a kukorica *Fusarium* fertőzöttségére és toxin szennyezettségére. A kísérletben szereplő kukoricaminták 1997 és 1999 közötti időszakból származtak. A betakarítást követően hat hónapig tárolták a mintákat különböző laboratóriumi beállítások mellett. 28°C, 18°C és 4°C volt a tárolási hőmérséklet, és a minták felét kissé összetörték. Ezzel egyidejűleg a minták felét az eredeti nedvességtartalom mellett, a másik felét 14%-os nedvességtartalom mellett tárolták. Eredményeiben leírja, hogy a *Fusarium* fertőzöttségre és a toxinszennyezettségre főként az évjárat, a hőmérséklet és a csapadékviszony volt hatással. A kukorica kései fertőződése a 1998-as évben volt jelentős a csapadékos augusztus és szeptember hónapoknak köszönhetően. A tárolási kísérletek során azt az eredményt kapták, hogy kukorica esetében nagyobb gombaszám a szemek sérülésekor volt észlelhető. A magasabb hőmérséklet és nedvességtartalom, valamint a szemek sérülései több esetben pozitív hatást gyakoroltak a toxinkoncentrációra. A tárolás során a *Fusarium* fajok részaránya kisebb lett és a raktári penészként ismert *Penicillium* fajok vették át a domináns szerepet. Az őszi búza esetében a már fent említett tárolási beállítások mellett a minták felénél a nedvesítés és a szemek sérülései növelték a baktériumszámot, a gombaszámra nem volt ilyen hatással a nedvesítés. Az eredeti nedvességtartalom mellett tárolt búzákat magasabbak voltak. A tört szemek gombafertőzöttsége is magasabb volt. A gombaösszetételt vizsgálva azt tapasztalták, hogy legnagyobb arányban a *Penicillium* sp., mint raktári penész fordult elő (Veres, 2004). Azt, hogy a szemek sérülései pozitív hatással vannak a penészgomba szennyezettségre (*Aspergillus* és *Penicillium* fajokkal végzett kísérletek esetében) más kutatások is kimutatták. György és mtsai (2008) penészgombák és az általuk termelt mikotoxinok vizsgálata során azt figyelték meg, hogy az ép gabonaszemek nem, csak a gabonaőrleményeken szaporodtak el a penészgombák. Tuite és mtsai (1985) is vizsgálták különböző genotípusú kukoricaminták esetében a sérülések hatását a penészfertőzöttségre. A szemeket eltérő módon vágta meg és azt tapasztalták, hogy a sérült szemek fogékonyabbá váltak a gombás szennyeződésre.

Számos kutató szerint a globális felmelegedés hatása a melegkedvelő aflatoxintermelő fajok elterjedése lehet a mérsékelt éghajlatokon, továbbá a termés sebezhetőbbé válása a szennyeződésekkel szemben (Cotty és Jaime-Garcia, 2007; Paterson és Lima, 2010). Ezért kísérleteink során azt szeretnénk megvizsgálni, hogy milyen mértékű az *Aspergillusok* és *Penicilliumok* elterjedése a hazai gabonában.

Cairns-Fuller és mtsai (2005) vizsgálták a *Penicillium verrucosum* növekedéséhez és ochratoxin A (OTA) termeléséhez szükséges vízakaktivitási értéket és hőmérsékletet, valamint a CO₂ hatását. Örölt gabonából álló médium esetében 25°C-on az izolátumok gyorsabban nőttek, mint 15°C-on. Az optimális vízakaktivitási érték 10-25°C-on 0,98 volt. A növekedés marginális vízakaktivitási értékénél (0,85_{a_w}) 25°C-on mindegyik izolátum termelt ochratoxin A-t, míg 15°C-on csak egy izolátum. Egyrétegű búzából álló talajon kimutatták a gomba növekedését 10 és 15°C-on, 0,87-0,90 terjedő vízakaktivitási értékeknél. Az optimális feltételek az OTA termeléséhez ezen médiumon megegyeztek a növekedés feltételeivel. A CO₂ hatását egyrétegű búzából álló talajon vizsgálták. A CO₂ kísérlet során a következők voltak a vízakaktivitási értékek: 0,90; 0,95 és 0,995. Az optimális vízakaktivitási érték esetében (0,95_{a_w}), 25%-os CO₂ jelenlétében 40%-kal gátolódott a növekedés, és majdnem 75%-os volt a gátló hatása az 50%-os CO₂ jelenlétének. 28 napos expozíció alatt, 50%-os CO₂ jelenlétében 75%-kal csökkent az OTA termelése. Spadaro és mtsai (2010) az *Aspergillus carbonarius* ökológia igényeit vizsgálták. 15 és 30°C között az összes törzs növekedett. Az optimális hőmérséklet mind a növekedés, mind pedig az ochratoxin A termelés szempontjából a 30°C volt. 0,88-as vízakaktivitási értéknél egyik törzs sem növekedett. 0,98 és 0,95-ös vízakaktivitási értékek mellett pedig elérte a maximumát az OTA termelés. Az optimális toxintermeléshez pedig pH 4.0 volt szükséges.

Mitchell és mtsai (2003) vizsgálták az *Aspergillus ochraceus* ochratoxin A termeléséhez szükséges feltételeket. Úgy találták, hogy a legmagasabb OTA termelés 0,98-as vízakaktivitási értéknél következett be. A maximális termeléshez szükséges hőmérséklet pedig 25-30°C között volt.

Tárolás során jelentősége van még a rovarok által létrejövő szennyeződéseknek is. Életvékenységük során a rovarok metabolikus hő termelnek és „hot spot”-ok keletkeznek, melyek szennyeződéshez vezethetnek. Ezen kívül elmondható, hogy az aratás előtti rovarfertőzés hatására megemelkedik az aratás utáni aflatoxin koncentráció a kukorica esetében (Sauer és mtsai, 1984).

TÁPTALAJOK

Tsao szerint (1970) a szelektív táptalajoknak egyszerre kell biztosítani a szelektív felszaporítást, a szelektív gátlást, illetve a szelektív azonosítást.

A fuzárium-szelektív táptalajok többsége egy közismert fungicid, a pentaklór-nitrobenzol (PCNB) hatására épül, amit 1962-ben Nash és Snyder alkalmazott először szelektív táptalaj elkészítése során. Ezen szer a fuzáriumok kifejlődésére nincs hatással, de a legtöbb penészgomba kifejlődését gátolja (Szécsi, 2004).

King és mtsai (1979) vizsgálataik során úgy találták, hogy a dichloran és bengálrózsa kombinációját tartalmazó táptalaj (DRBC=Dichloran-Rose Bengal-Chloramphenicol) megfelelő mind a kitenyésző gombák számát, mind az izolált fajok változatosságát tekintve. Andrews és Pitt (1986) Dichloran-Chloramphenicol-Peptone (DCPA) agart készítették *Fusarium* fajok és *Alternaria* fajok izolálására gabonából. Ez a táptalaj

segítette a *Fusarium*, *Alternaria*, *Drechslera* és *Curvularia* fajok növekedését, amelyek jól formált telepeket képeztek rajta. Számos *Fusarium* és egyéb faj volt közvetlenül azonosítható erről a táptalajról.

Skaar és Stenwig (1996) a MYSA (Malt-Yeast Extract Sucrose Agar) táptalajt hasonlították össze a DRBC táptalajjal. A MYSA tartalmazott még a fenti összetevőkön kívül ökörepét és antibiotikumokat is. Az ökörepe egyik tulajdonsága az, hogy jelenlétében jól fejlődnek a légmicéliumok. Kísérleteik során DRBC agar meggátolta a légmicélium képzést és csökkentette a telepek méretét. A MYSA táptalajon is csökkent a telepek radiális növekedése, de nem ugyanolyan mértékben, mint a DRBC agaron. A MYSA táptalajnak gátló hatása volt a gyorsan növekvő gombákra, mint pl.: *Rhizopus* spp. és *Mucor* spp. Ezen a talajon átoltás nélkül is könnyen azonosíthatóak voltak a megjelenő gombatelepek, és telepek színe is jobban látható volt, mint a DRBC táptalajon.

Fusarium fajok számára állítottak elő szelektív táptalajt Castellá és mtsai (1997). Ennek alapját a Nash and Snyder táptalaj képezte, amihez 2,5 ppm-es mennyiségben malachit zöldet adtak. Arra az eredményre jutottak, hogy a MGA (Malachit Green Agar) szelektivitás tekintetében megbízhatóbb médium, mint a NSMB (Nash and Snyder Medium Base), mivel az utóbbi táptalajon más gomba fajok is jól növekedtek. És a PCNB-t tartalmazó táptalajokhoz képest ezen táptalaj kevésbé veszélyes.

Klinikai minták esetén használható agarokat is hasonlítottak össze (Scognamiglio és mtsai, 2010). Ezen talajokon a különböző testrészekből származó minták esetén vizsgálták az előforduló gombafajtaikat. Az IMA (Inhibitory Mold Agar) táptalaj használata során sokkal több izolátum fejlődött ki, de a SDA (Sabouraud Dextrose Agar) táptalajon olyan fajok is növekedtek, amelyek számára antibiotikum mentes közeg szükséges. Ilyenek pl.: a *Nocardia* fajok. Más kísérletekben cysticus fibrosisban szenvedő betegek köpetéből kimutatható gombák számára próbálták meg táptalajt kifejleszteni. SDA táptalajt hasonlítottak össze antibiotikum tartalmú SDA táptalajjal (SDA⁺) és egy Medium B nevű táptalajjal. A Medium B táptalaj a következő összetevőkből állt: glükóz, agar, élesztő kivonat és pepton. Ebből is készítettek antibiotikumokkal kiegészített változatot, amit Medium B⁻-nak jelöltek. Antibiotikumként cotrimethoxazolet, chloramphenicol, ceftazidimet és collistint alkalmaztak. Az eredmények alapján elmondható, hogy a SDA⁺ volt a legszelektívebb táptalaj, míg a Medium B⁺ táptalajt találták a legérzékenyebbnek a gombák izolálásának szempontjából (Nagano és mtsai, 2008).

Szécsi (1994) kutatómunkája során Böhm-Schraml és mtsai 1993-as módszerét próbálta ki, az általuk izolált és morfológiailag meghatározott *F. graminearum* izolátumokkal. A táptalaj mannitolt, agart, desztillált vizet és pentaklór-nitrobenzolt (PCNB) tartalmazott. Az előzőleg SNA táptalajon növesztett izolátumokból steril körülmények között 1 cm-es dugófúróval korongokat vágtak ki, és azokat helyezték az FGS (*Fusarium graminearum* Selective)-agarra. 4 napos inkubáció alatt a korongok többsége cseresznyevörös lett. Búzaszemek esetében a 7. napon jelentek meg a látható micéliumgyepek a szemek körül az FGS-agar lemezekén. A micéliumgyep alatti agarban a 10. napra láthatóvá váltak a cseresznyevörös pigmentek. A cseresznyevörös pigmentet termelő telepeket szegfűlevél-agarra oltották át és morfológiailag meghatározták az izolátumokat. A termőtestek a 10-14. napon jelentek meg. Eredményeik alapján arra a következtetésre jutottak, hogy az FGS-agar alkalmas a *F. graminearum* izolálására és előzetes azonosítására növénymintákból.

Szécsi és Mesterházy (1998) azt vizsgálták, hogy a Togawa-féle táptalaj, alkalmas-e *F. graminearum* izolálására és azonosítására árpa-, búza- és kukoricaszemekből, illetve gátolja-e a *F. moniliforme* és a *F. subglutinans* kifejlődését, kukoricaszem-mintákból. A táptalaj esetében a szelektív szénforrást a D-xilóz, a szelektív nitrogénforrást pedig az L-glutaminsav biztosította. A szelektív gátlásért a talajban található antimikrobiális vegyületek és a lúgos pH a volt felelős. A szelektív azonosítást pedig a *F. graminearum* által termelt cseresznyevörös pigment tette lehetővé. Ezen a táptalajon a kukoricaszemekből a cseresznyevörös pigmentet termelő *F. graminearum* mellett még két telepmorfológiájában és színében eltérő fuzárium faj is kinőtt és jól fejlődött. A *F. moniliforme* telepeit fehér, lisztes, tömött és a táptalajhoz simuló micélium alkotta. A *F. subglutinans* világosbarna, bőrszerű és a táptalajhoz simuló telepeket növesztett. Tehát elmondható, hogy ez a táptalaj alkalmas *F. graminearum*, *F. moniliforme* és *F. subglutinans* szelektív izolálására és azonosítására is a telepmorfológiájuk és színük alapján.

IDENTIFIKÁLÁS POLIMERÁZ LÁNREAKCIÓ (PCR) SEGÍTSÉVEL

A riboszomális DNS (rDNS) gének felépítése gombákban igen konzervatív (Bruns, 1991). Nem kódoló ITS1 és ITS2 szekvenciák választják el egymástól a három tandem ismétlődő strukturális rDNS gént. Az ITS régiók fajokként vagy nemzetségenként változó szekvenciákat tartalmazhatnak, így alkalmasak lehetnek az egyes fajok, nemzetségek vagy törzsek specifikus megkülönböztetésére (White és mtsai, 1990). A 18S rDNS is alkalmas célszekvencia gombák azonosítására, mert nagyobb részt ismert szekvenciákat, valamint konzervatív és változó régiókat tartalmaz (Van de Peer és mtsai, 1996). A másik lehetőség gombák azonosítására PCR reakcióval, ha a toxintermeléssel kapcsolatos gének jelenlétét szeretnénk kimutatni.

Koncz és mtsai (2008) hazai *Fusarium graminearum* izolátumok azonosítására alkalmaztak polimeráz-lánreakciót. Három pár indítószekvenciát használtak, melyek közül az Fg16F/Fg16R találták a legmegbízhatóbbnak.

Sreenivasa és mtsai (2006) fumonizin termelő *Fusarium* fajokat azonosítottak PCR segítségével, frissen aratott kukoricaszemekről. Az egyik primer szett az *Eurotium* genus ITS DNS régiójában kötődött, a másik primer szett pedig a FUM1 génnél, aminek a fumonisin termelésben van szerepe. Mind a harmadikként *Fusarium* izolátum adott terméket az ITS régióhoz alkalmazott primerrel. A kontrollként használt *Aspergillus flavus* és *Alternaria alternata* fajok nem adtak pozitív reakciót ezzel a primerrel. A FUM1 génnél használt primerek esetében a vizsgált *Fusarium* izolátumok közül összesen nyolc izolátum esetében volt a reakció pozitív, keletkezett amplikon. Latha és mtsai (2008) multiplex PCR technikát alkalmaztak aflatoxinogén és nem aflatoxinogén *Aspergillus* fajok detektálására. A primereket az aflatoxin regulátor génhez (*aflR*), az o-methyl transferáz génhez (*omt*) (ezen géneknek a toxinszintézisben van szerepe) és a 18S rDNS NS (Nuclear Small Subunit) régióhoz tervezték. Az aflatoxinogén *Aspergillus* fajok DNS-ei PCR terméket képeztek az *omt* és *aflR* génekhez tervezett primerekkel, a nem aflatoxinogén fajok esetében nem történt amplifikáció. Az NS régióhoz tervezett primer mindegyik *Aspergillus* fajnál pozitív reakciót adott.

EGYÉB AZONOSÍTÁSI MÓDSZEREK

Azokat a fehérjéket, melyek elektroforézissel elválaszthatóak, azonos reakciókat katalizálnak, de nem azonosak az enzimatisuk tulajdonságaik, izoenzimeknek nevezzük.

Az izoenzimiek elkülönítésére használt legelterjedtebb módszerek a keményítő-gél-elektroforézis és a poliakrilamid gél-elektroforézis. Az izoenzimanalízishez szükséges fehérjekivonatok gombaspórából, micéliumból és a gomba termőtestéből származhatnak. A vizsgált fajok közötti genetikai hasonlóság vagy különbözőség könnyen meghatározható az izoenzimintázatok (zimogramok) alapján különböző numerikus-klasszifikációs módszerek alkalmazásával. Leggyakrabban használt enzimek: almasav-dehidrogenáz, észteráz, foszfooglukomutáz, glukóz-6-foszfát dehidrogenáz, hexokináz, izocitromsav dehidrogenáz, savanyú foszfatáz (Szécsi, 1998).

Mivel kicsi a gombák genomja és az ismétlődő szekvenciák aránya a növényekhez és állatokhoz képest, ideális választásnak tűnnek a hibridizációs vizsgálatokhoz (Bruns, 1991). Így például a DNS:DNS hibridizációhoz is, ami lehetővé teszi, hogy a teljes nukleotid-bázissorrend meghatározása nélkül is bizonyítható legyen két nukleinsav hasonlóságának, illetve különbözőségének mértéke. A módszer alapja a következő: hőkezelés hatására a DNS kettős fonálban a két nukleinsav szálát összekötő H-híd kötések felszakadnak, a DNS kettős spirál denaturálódik. Ha a denaturálódott DNS-mintát megfelelő oldószerben és optimális renaturációs hőmérsékleten tartjuk, akkor a két nukleinsav lánc között helyreállnak a H-kötések, vagyis újraképződik (renaturálódik) a DNS kettős spirálja. A renaturáció szigorúan specifikus folyamat, csak egymással komplementer szálak képeznek kettős spirált (Szécsi, 1998).

IRODALOM

- Andrews, S.-Pitt, J. (1986): Selective Medium for Isolation of *Fusarium* Species and Dematiaceous Hyphomycetes from Cereals. Applied and Environmental Microbiology, 51. 6. 1235-1238.
- Bruns, T.D.-White T.J.-Taylor J.W. (1991): Fungal Molecular Systematics. Annual Review of Ecological Systems, 22. 525-564.
- Cairns-Fuller, V.-Aldred D.-Magan, N. (2005): Water, temperature and gas composition interactions affect growth and ochratoxin A production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain. Journal of Applied Microbiology, 99. 1215-1221.
- Castellá, G.- Bragulat, M.R.-Rubiales, M.V.-Cabanes, F.J. (1997): Malachite green agar, a new selective medium for *Fusarium* spp. Mycopathologia, 137. 173-178.
- Cotty, Peter J.-Ramon Jaime-Garcia (2007): Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. International Journal of Food Microbiology, 119. 109-115.
- CSL (2005): Understanding and preparing for climate change. Prospectus. Central Science Laboratory, Sand Hutton, York, U.K.
- Dobolyi, Cs.-Sebők, F.-Varga, J.-Kocsubé, S.-Szigeti, Gy.-Baranyi, N.-Szécsi, Á.- Lustyik, Gy.-Micsinai, A.-Tóth,B.-Varga, M.-Kriszt, B.-Kukolya, J. (2011): Aflatoxin-termelő *Aspergillus flavus* törzsek előfordulása hazai kukorica szemtermésben. Növényvédelem, 47. 4. 125-133.
- Douglas, A. King, Jr.-Ailsa D. Hocking-John I. Pitt (1979): Dichloran-Rose Bengal Medium For Enumeration and Isolation of Molds from Foods. Applied and Environmental Microbiology, 37. 5. 959-964.
- Farkas, J.-Beczner, J. (2009): A klímaváltozás és a globális felmelegedés várható hatása a mikológiai élelmiszer-biztonságra. " Klíma-21" Füzetek, 56. 3-17.
- György, É.-Harai, É.-András, Cs. D.-Tolokán, A.-Hantz, A. (2008): Mikotoxinogén penészgombák vizsgálata és az általuk termelt mikotoxinok analitikai kimutatása fűszerekből és takarmányokból. Orvostudományi Értesítő, 81. 4. 275-278.

- Hope, R.-Aldred, D.-Magan, N. (2005): Comparison of environmental profiles for growth and deoxynivalenol production by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* on wheat grain. *Letters in Applied Microbiology*, 40. 295-300.
- Koncz, Zs.-Husztai, K.-Naár, Z.-Kiss, A.-Szécsi, Á. (2008): Hazai *Fusarium graminearum*-izolátumok azonosítása polimeráz-láncreakcióval. *Növényvédelem*, 44. 2. 53-58.
- Kovács, F. (2010): Agrártermelés-Tápláléklánc-Mikotoxinok. In: *Aktualitások a mikotoxin kutatásban* (szerk.: Kovács Melinda) Budapest: Agroinform Kiadó, 7-12.
- Latha, R.-Manonmani, H.K.-Rati, E.R. (2008): Multiplex PCR Assay for the Detection of Aflatoxigenic and Non-Aflatoxigenic *Aspergilli*. *Research Journal of Microbiology*, 3. 3. 136-142.
- Magan, N.-Lacey J. (1984): The effect of temperature and pH on the water relations of field and storage fungi. *Transaction of British Mycological Society*, 82. 71-81.
- Mitchell, D.-Aldred, D.-Magan, N. (2003): Impact of ecological factors on growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* form different regions of Europe. *Aspects of Applied Biology*, 68. 109-116.
- Nagano, Y.-Millar, B.Cherie –Goldsmith, C.E.-Walker, J. M.-Elborn J. S.-Rendall J.- Moore, J.E. (2008): Development of Selective media for isolation of yeasts and filamentous fungi from the sputum of adult patients with cystic fibrosis (CF). *Journal of Cystic Fibrosis*, 7. 566-572.
- Paterson, R.Russel M-Lima, N. (2010): How will climate change affect mycotoxins in food?. *Food Research International*, 43. 1902-1914.
- Sauer, D.B.-Storey, C.L.-Walker, D.E. (1984): Fungal populations in US farming-stored grain and their relationship to moisture, storage time, regions and insect infestation. *Phytopathology*, 74. 1050-1053.
- Scognamiglio, T.-Zinchuk, R.-Gumpeni, P. –Larone, D.H. (2010): Comparison of Inhibitory Mold Agar to Sabouraud Dextrose Agar as a Primary Medium for Isolation of Fungi. *Isolation of Fungi. Journal of Clinical Microbiology*, 48. 5. 1924-1925.
- Skaar, I.-Stenwig, H. (1996): Malt-Yeast Extract Agar, Suitable Medium for Enumeration and Isolation of Fungi from Silage. *Applied and Environmental Microbiology*, 62. 10. 3614-3619.
- Spadaro, D.-Patharajan, S.-Lore, A.-Gullino, M.L.-Garibaldi, A. (2010): Effect of pH, water activity and temperature on the growth and accumulation of ochratoxin A produced by three strains of *Aspergillus carbonarius* isolated from Italian vineyards. *Phytopathologia Mediterranea*, 49. 1. 65-73.
- Sreenivasa, M.Y.-Dass, R. S.-Charith Raj, A.P.-G.R. Janardhana, G.R. (2006): Molecular Detection of Fumonisin Producing *Fusarium* Species of Freshly Harvested Maize Kernels Using Polymerase Chain Reaction (PCR). *Taiwania*, 51. 4. 251-257.
- Szécsi, Á. (1994): *Fusarium graminearum* izolátumok azonosítása egy új módszerrel. *Növényvédelem*, 30. 1. 1-6.
- Szécsi, Á. (1998): Molekuláris módszerek a gombák azonosításában és rendszerezésében. In: *Növénykórokozó mikroorganizmusok* (szerk. Érsek T. - Gáborjányi R.). ELTE Eötvös Kiadó, Budapest. 219-233.
- Szécsi, Á. (2004): Szelektív táptalajok *Fusarium*-fajok izolálására és megkülönböztetésére. *Növényvédelem*, 40. 7. 339-342.
- Szécsi, Á.-Mesterházy-Á. (1998): Szelektív táptalaj alkalmazása fuzáriumok izolálására és azonosítására gabona- és kukoricaszemekből. *Növényvédelem*, 34. 2. 61-66.
- Tsao, P. H. (1970): Selective media for isolation of pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 8. 157-186.
- Tuite, J.-Koh-Knox, C.-Stroshine, R.-Cantone, F.A.-Bauman, L.F. (1985): Effect of Physical Damage to Corn Kernels on the Development of *Penicillium* species and *Aspergillus glaucus* in Storage. *Postharvest Pathology and Mycotoxins*, 75. 10. 1137-1140.
- Van de Peer, Y.-Nicolai, S.-DE Rijk, P.-De Wachter, R. (1996): Database on the structure of small ribosomal subunit RNA. *Nucleic Acids Research*, 24. 423-428.
- Vesonder, R.F.-Ellis, J.J.-Kwolek, W. F.-DeMarini, D.J. (1982): Production of Vomitoxin on Corn by *Fusarium graminearum* NRRL 5883 and *Fusarium roseum* NRRL 6101. *Applied and Environmental Microbiology*, 43. 4. 967-970.
- Veres, E.-Borbély, M.-Győri, Z.-Kátai, J. (2002): A tárolási feltételek hatása a kukorica *Fusarium* fertőzöttségére és toxin szennyezettségére. *Agrártudományi Közlemények*, 1. 28-32.
- Veres, E. (2004): Őszi búza *Fusarium* fertőzöttségének és mikotoxin szennyezettségének vizsgálata. *Debreceni Agrártudományi Egyetem, Debrecen*, 1-9.
- White, T.J.-Bruns, T.-Lee, S.-Taylor, J. (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J.(Eds.): Methodes od mycological examinations of foods*. New York: Plenum Press, 230-238.