

**SÖTÉT SZEPTÁLT ENDOFITON GOMBÁK
ÉS NÖVÉNYI ALAPANYAGOK ENDOFITON GOMBÁI,
ÉS MÁSODLAGOS ANYAGCSERETERMÉKEIK**

Doktori értekezés

BEREK-NAGY PÉTER JÁNOS

DOI: 10.15476/ELTE.2024.290

ELTE Biológia Doktori Iskola

Iskolavezető: Dr. Nyitray László, egyetemi tanár

Kísérletes Növénybiológia Doktori Program

Programvezető: Dr. Kovács M. Gábor, egyetemi tanár

Témavezetők:

Boldizsár Imre, PhD, Dr. habil., egyetemi docens

Kovács M. Gábor, PhD, Dr. habil., DSc, egyetemi tanár

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar,

Biológiai Intézet, Növény szervezettani Tanszék



Budapest

2024

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS.....	4
2. CÉLKITŰZÉSEK.....	13
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	14
3.1 Mintavétel.....	14
3.2 Endofiton gombák izolálása.....	17
3.3 Endofiton gombák azonosítása.....	18
3.3.1 DNS régiók szekvenciáinak meghatározása.....	18
3.3.2 Filogenetikai elemzések.....	19
3.4 Endofiton gombák morfológiai vizsgálata.....	21
3.5 Endofiton gombák <i>in planta</i> vizualizálása.....	22
3.6 Endofiton gombák és növényi alapanyagok vegyületeinek vizsgálata....	22
3.6.1 Mintaelőkészítés.....	22
3.6.2 Kivonatkészítés.....	23
3.6.3 Analitikai kivonatok vizsgálata.....	23
3.6.4 Vegyületek izolálása és azonosítása.....	24
3.6.5 Vegyületek mennyiségi meghatározása.....	25
3.6.6 Petaszol izomerizációjának vizsgálata.....	25
3.7 Vegyületek <i>in vitro</i> biológiai aktivitásának tesztelése.....	26
3.7.1 Növényre gyakorolt hatás.....	26
3.7.1.1 Salátamagvak csírázására gyakorolt hatás.....	26
3.7.1.2 Békalencse növekedésére gyakorolt hatás.....	26
3.7.2 Citosztatikus hatás.....	26
3.7.3 Antibakteriális hatás.....	27
4. EREDMÉNYEK.....	29
4.1 Endofiton gombák izolálása és azonosítása.....	29
4.1.1 Sötét szeptált endofiton gombák.....	29
4.1.1.1 Flavomyces fulophazii izolátumok.....	29
4.1.1.2 Darksidea izolátumok.....	29
4.1.2 Csiperketermesztésre szolgáló komposzt endofiton gombái.....	34
4.1.2.1 Jellemző növényi alapanyagok endofiton gombái.....	34
4.1.2.2 Komposztgyártás során azonosított endofiton gombák.....	36
4.1.3 Gyógynövények endofiton gombái.....	42
4.1.3.1 Festő buzér endofiton gombái.....	42
4.1.3.2 Tövises iglice endofiton gombái.....	42
4.1.3.3 Tarackbúza endofiton gombái.....	43
4.2 Endofiton gombák morfológiai vizsgálata.....	45
4.3 Endofiton gombák <i>in planta</i> vizualizálása.....	46
4.4 Endofiton gombák és növényi alapanyagok vegyületei.....	46
4.4.1 Sötét szeptált endofiton gombák vegyületei.....	46
4.4.1.1 Flavomyces fulophazii izolátumok vegyületei.....	46
4.4.1.2 Darksidea izolátumok vegyületei.....	55
4.4.2 Csiperketermesztésre szolgáló komposzt és endofiton gombáinak vegyületei.....	67
4.4.3 Gyógynövények endofiton gombáinak vegyületei.....	73
4.5 Vegyületek <i>in vitro</i> biológiai aktivitása.....	79
4.5.1 Növényre gyakorolt hatás.....	79
4.5.1.1 Salátamagvak csírázására gyakorolt hatás.....	79
4.5.1.2 Békalencse növekedésére gyakorolt hatás.....	79

4.5.2 Citosztatikus hatás.....	80
4.5.3 Antibakteriális hatás.....	81
5. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA.....	82
5.1 Sötét szeptált endofiton gombák és vegyületeik.....	82
5.1.1 Flavomyces fulophazii izolátumok.....	82
5.1.1.1 Flavomyces fulophazii izolátumok azonosítása.....	82
5.1.1.2 Flavomyces fulophazii izolátumok vegyületei.....	82
5.1.2 Darksidea izolátumok.....	85
5.1.2.1 Darksidea izolátumok azonosítása.....	85
5.1.2.2 Darksidea izolátumok vegyületei.....	90
5.2 Csiperketermesztésre szolgáló komposzt – endofiton gombák és vegyületek.....	105
5.2.1 Endofiton gombák azonosítása.....	105
5.2.1.1 Jellegző növényi alapanyagok endofiton gombái.....	105
5.2.1.2 Komposztgyártás során azonosított endofiton gombák.....	107
5.2.2 Endofiton gombák in planta vizualizálása.....	115
5.2.3 Vegyületek azonosítása.....	116
5.3 Gyógynövények – endofiton gombák és vegyületek.....	118
5.3.1 Endofiton gombák azonosítása.....	118
5.3.2 Vegyületek azonosítása.....	120
5.4 Vegyületek in vitro biológiai aktivitása.....	124
5.4.1 Növényre gyakorolt hatás.....	124
5.4.2 Citosztatikus hatás.....	127
5.4.3 Antibakteriális hatás.....	127
6. KONKLÚZIÓK.....	132
7. ÖSSZEFOGLALÁS.....	135
8. SUMMARY.....	136
9. IRODALOMJEGYZÉK.....	137
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	158
11. FÜGGELÉK.....	159
12. PUBLIKÁCIÓS LISTA.....	199

1. BEVEZETÉS

A növények különböző mikroorganizmusokkal élnek szimbiózisban, melyek egy része, az együttélés természete alapján, a mutualista vagy parazita partnerek körébe egyértelműen besorolható. A növényeket vízzel és ásványi anyagokkal ellátó, cserébe növényi szénhidrátokban és szerves vegyületekben részesülő, mikorrhizaképző, vagyis az abszorpció kettős szervének kialakításában szerepet játszó gombák például a növények mutualista partnereinek tekinthetők, hiszen gazdaszervezeteikkel való együttélésükre hosszabb távon is egymás igényeinek kölcsönös kielégítése a jellemző (Porras-Alfaro és Bayman 2011). A növények az egyértelműen mutualista vagy parazita mikroorganizmusok mellett együtt élnek úgynevezett endofiton mikroorganizmusokkal is, melyek definíció szerint, életüknek legalább egy szakaszában, a növények szöveteit, azok szabad szemmel látható károsítása nélkül kolonizálják (Saikkonen és mtsai 1998). Mivel a kolonizáció akár csak ideiglenes tünetmentessége az együttélés számos válfajára jellemző lehet, endofitonok alatt akár látens patogén és látens szaprotróf mikroorganizmusokat is érthetünk (Saikkonen és mtsai 1998, Porras-Alfaro és Bayman 2011). A kolonizáció tünetmentességének egy lehetséges magyarázatát Schulz és Boyle (2005) „kiegyensúlyozott antagonizmus” hipotézise adja, mely szerint az endofitonok képesek ugyan a növények fertőzésére, a növények is képesek azok kordában tartására, az endofiton és gazdaszervezetének az egyes felek túlélését nem veszélyeztető, sőt, akár az azt biztosító együttélését eredményezve. Az endofiton és gazdaszervezetének kiegyensúlyozott antagonizmusa a növény elöregedésével, legyengülésével kiegyensúlyozatlanná válhat, az endofitonokként is kezelhető látens patogén és látens szaprotróf mikroorganizmusoknak kedvezve (Schulz és Boyle 2005).

Az endofiton gombák, az egyéb mikroorganizmusokhoz és a növényekhez hasonlóan, úgynevezett másodlagos anyagcseretermékeket is előállítanak, melyek a változó környezethez való alkalmazkodásuk és a különböző élőlényekkel való kölcsönhatásaik terén, illetve bizonyos egyedfejlődési folyamataikban játszanak szerepet (Schulz és mtsai 2002, Nisa és mtsai 2015, Yang és mtsai 2018, Keller és mtsai 2019). E rendszerint kis molekulatömegű vegyületek különféleképpen csoportosíthatók. A szintézisükben szerepet játszó enzimek alapján például megkülönböztetünk többek között poliketid, terpenoid és nem riboszomális peptid típusú vegyületeket, melyek különböző, úgynevezett elsődleges anyagcseretermékekből, többek között az acetil-koenzim-A vegyületből és aminosavakból szintetizálódnak. Szerkezeti sokféleségükhöz a hibrid, azaz több különböző típusú

molekularészletből álló, például poliketid–nem riboszomális peptid típusú anyagcseretermékek is hozzájárulnak (Keller és mtsai 2019). Az endofiton gombák a másodlagos anyagcseretermékek kiemelkedően értékes, ugyanakkor kiaknázatlan forrásainak tekinthetők, mivel e gyakorlatilag minden növényben megtalálható, filogenetikailag nem egységes, a kolonizáció tünetmentességétől függetlenül változatos életmódú, a növények mellett más élőlényekkel is közvetve vagy közvetlenül kölcsönható, s mindezek következtében igen eltérő másodlagos anyagcseretermékeket előállító mikroorganizmusokat kevésbé kutatják (Nisa és mtsai 2015, Maciá-Vicente és mtsai 2018). A növényekkel való együttélésük kiegyensúlyozottságáért is, legalább részben, az általuk termelt vegyületek felelhetnek. A pázsitfűfélék föld feletti szerveit kolonizáló *Epichloë* fajok például a gazdaszervezetüket a növényevőkkel szemben védő, alkaloid típusú vegyületeket állítanak elő, mellyel biztosíthatják a kolonizált szövetekben való, a gazdaszervezetük által megtűrt jelenlétüket. Egyes endofiton gombák akár a gazdanövényükre is jellemző, az azok számára valamilyen oknál fogva hasznos másodlagos anyagcseretermékeket állítanak elő (Maciá-Vicente és mtsai 2018). Bár az endofiton gombák termelte másodlagos anyagcseretermékek ökológiai funkciói a legtöbb esetben tisztázatlanok, illetve *in planta* termelésük is csak elvétve bizonyított (Aly és mtsai 2010), az *in vitro* biológiai aktivitásukra irányuló tesztek alapján bőséggel vannak köztük például fitotoxikus (Maciás-Rubalcava és Garrido-Santos 2022), antibakteriális (Deshmukh és mtsai 2022) és citotoxikus (Uzma és mtsai 2018) vegyületek.

Az endofiton gombák között, elsősorban filogenetikai szempontok és életmenet-stratégiák alapján, megkülönböztetjük a *Clavicipitaceae* családba tartozó C- („*Clavicipitaceous*”) és a más családokat reprezentáló NC- („*Nonclavicipitaceous*”) endofitonokat (Rodriguez és mtsai 2009). Bővebb ismeretekkel a pázsitfűfélék föld feletti szerveit kolonizáló C-endofitonokkal kapcsolatban rendelkezünk, köszönhetően azon kutatásoknak, melyeket e mikroorganizmusok mezőgazdasági hatásai ösztönöztek, legyen szó a legelő szarvasmarhák *Neotyphodium coenophialum* okozta nyári szindróma megbetegedéséről, vagy a gabonafélék *Claviceps purpurea* okozta terméseszkénységéről. A kevésbé ismert, azonban jóval szélesebb gazdakörrel rendelkező, gyökérkolonizáló gombákat is felvonultató NC-endofitonok közül kerülnek ki a kutatócsoportunk által is tanulmányozott, úgynevezett sötét szeptált endofiton (DSE: „*dark septate endophyte*”) gombák (Rodriguez és mtsai 2009).

A DSE gombák az endofitonok egy formacsoportját adják, nevüket hifáik rendszerint melanizált és szeptált jellegéről kapták. Filogenetikailag nem alkotnak egységes csoportot, képviselőik a tömlősgombák (Ascomycota) közül, többek között a Helotiales, Pleosporales és Xylariales rendekből kerülnek ki. Kizárólag gyökereket kolonizálnak. Nem mutatnak gazdaspecifitást, ugyanakkor egyes DSE gombák, így például a Pleosporales rendbe tartozó *Periconia macrospinoso* a pázsitfűfélék, míg a Helotiales rendet reprezentáló *Cadophora* fajok a nem pázsitfűfélék, jellemzően fásszárú növények gyökereit kolonizálják elsősorban (Sieber és Grünig 2013). Bár a földrajzi elterjedésükre vonatkozó információk zömmel sarkvidéki, hegyvidéki és mérsékelt övi területekről származnak, a DSE gombák szinte minden ökoszisztémában megtalálhatók, még ismeretlen ökológiai funkciókat tölthetnek be világszerte. Ilyen funkciók lehetnek a növények tápanyagokkal történő ellátása, a biotikus és abiotikus stresszt kiváltó tényezőkkel szembeni ellenálló képességük fokozása (Mandyam és Jumpponen 2005).

Egyes megfigyelések alapján a DSE gombák az abiotikus stresszt kiváltó tényezőknek jobban kitett területeken gyakoribbak (Mandyam és Jumpponen 2005). Ilyen területek a hazánkban található, erős UV-sugárzással, magas hőmérséklettel, szárazsággal és tápanyaghiánnyal jellemezhető kiskunsági nyílt homokpusztagyepek is (Kovács és Szigetvári 2002, Knapp és mtsai 2012). Kutatócsoportunk, e területek gyökéraszociált gombaközösségeinek tanulmányozása során, igen gyakran tapasztalt DSE gombák általi kolonizációt. A Kovács és Szigetvári (2002) által vizsgált, 29 különböző családba tartozó 89 növényfaj közül 63 gyökereiben fordultak elő melanizált és szeptált, így minden bizonynyal DSE gombák képezte hifák. A Knapp és mtsai (2012) által izolált, pázsitfűfélék és egyéb növények gyökereiből származó közel 300 izolátum 60%-a bizonyult DSE gombának. Ezek között, úgy, mint a világ különböző részein előforduló, hasonló élőhelyek DSE közösségeiben, kiemelkedő mértékben reprezentáltatta magát a Pleosporales rend, többek között az endofiton és (látens) patogén gyökérkolonizálóként is ismert *Acrocalymma vagum*, a pázsitfűfélék gyökereit világszerte kolonizáló *P. macrospinoso*, vagy éppen a kutatócsoportunk által 2015-ben leírt *Flavomyces* és *Darksidea* nemzetségek (Knapp és mtsai 2015) izolátumai révén.

A *Flavomyces* nemzetséget és a *F. fulophazii* fajt Knapp és mtsai (2015), egy a kiskunsági nyílt homokpusztagyepeken gyakori pázsitfűfélék, a *Festuca vaginata* (magyar csenkesz) gyökereiből származó két DSE izolátum morfológiai és molekuláris filogenetikai vizsgálata alapján írták le. A faj az izolátumok által a táptalajba bocsátott pigment(ek) sárga (latinul „flavus”) színéről, illetve a gyűjtés helyszínéhez közel található

Fülöpháza településről kapta a nevét. Filogenetikai elemzések alapján a *Flavomyces* nemzetség a Pleosporales rend Massarineae alrendjének Periconiaceae családjába tartozik, igaz, filogenetikai státusza máig tisztázatlan (Knapp és mtsai 2015, Tanaka és mtsai 2015, Yang és mtsai 2022).

A *Darksidea* nemzetséget, azon belül pedig a *D. alpha*, *D. beta*, *D. gamma*, *D. delta*, *D. epsilon* és *D. zeta* fajokat Knapp és mtsai (2015), szintén a kiskunsági nyílt homokpusztagyepekről, döntően pázsitfűfélék gyökereiből származó DSE izolátumok morfológiai és molekuláris filogenetikai vizsgálata alapján írták le. A későbbiekben, Romero-Jiménez és mtsai (2022), észak-amerikai füves területekről származó izolátumok alapján írták le a *D. phi* fajt, mellyel a *Darksidea* fajok száma hétre emelkedett. Filogenetikai elemzések alapján a *Darksidea* nemzetség a Pleosporales rend Massarineae alrendjének Lentitheciaceae családjába tartozik (Knapp és mtsai 2015). A különböző DSE gombák számos közös tulajdonsága mellett e nemzetség taxonómiáját nehezíti az egyes leszármazási vonalak megkülönböztetésére potenciálisan alkalmas ivaros és ivartalan spórák hiánya, illetve az egyes leszármazási vonalakon belül is jelentkező, számottevő genetikai és morfológiai heterogenitás (Knapp és mtsai 2015). Ráadásul, a tenyészetek DNS-szekvenciái és a környezeti, például gyökerekből származó DNS-szekvenciák alapján, e nemzetségnek számos további, akár új fajokat reprezentáló leszármazási vonala is létezik (Knapp és mtsai 2019, Romero-Jiménez és mtsai 2022). Tekintettel a *Darksidea* nemzetség taxonómiai nehézségeire, az izolátumok átfogó, nem csupán filogenetikai, hanem több különböző szempont alapján történő jellemzése elősegítheti e nemzetség és azon belül a különböző fajok, leszármazási vonalak pontosabb lehatárolását. A gombák metabolittermelése tekintetében például több ízben is kimutattak taxonok közti különbségeket (Molnár és mtsai 2023). Ez alapján feltételezhető, hogy a *Darksidea* izolátumok is termelnek olyan másodlagos anyagcseretermékeket, melyek egyes izolátumokban való előfordulása, a molekuláris filogenetikai elemzések eredményeit kiegészítve, segíthet a nemzetség, azon belül pedig a különböző fajok, leszármazási vonalak pontosabb lehatárolásában.

Endofiton gombák és másodlagos anyagcseretermékeik, ahogy a természetes ökoszisztémák részét képező növényekben, úgy az ipari felhasználásra kerülő növényi alapanyagokban is jelen lehetnek. Valójában számos tevékenység során használunk fel növényi alapanyagokat úgy, hogy a bennük előforduló endofiton gombákról és anyagcsereter-

mékeikről, az adott tevékenységet potenciálisan befolyásoló szerepükről kevés információ áll rendelkezésünkre. Ilyen tevékenységek például a csiperketermesztésre szolgáló komposzt és a növényi eredetű gyógyhatású készítmények előállítása.

A kétspórás csiperke (*Agaricus bisporus*) az egyik legfontosabb, étkezési célból termesztett gomba. A többi termesztett gombához hasonlóan a csiperke termesztéséhez is egy megfelelő közegre van szükség, melyet egy szigorúan szabályozott, számos lépésből álló komposztálási folyamat során állítanak elő (Kertesz és Thai 2018).

A komposztálás egy aerob, szilárd fázisú, biodegradációs folyamat, mely során a jellemzően mezőgazdasági eredetű szerves anyagokat a mikroorganizmusok szabályozott körülmények között, hő felszabadulása mellett, szervetlen vegyületekké és humusszá alakítják át. A komposztálás során uralkodó körülmények (tápanyag-hozzáférhetőség, hőmérséklet, nedvességtartalom, oxigén-, szén-dioxid- és ammóniumkoncentráció) a mikroorganizmusok anyagcseréje következtében folyamatosan változnak, ami a mikrobiális közösség összetételének következményes váltoásaival, szukcessziójával jár együtt (Ryckeboer és mtsai 2003). Míg a hagyományos komposztálás során bekövetkező mikrobiális szukcesszióról számos, addig a csiperketermesztésre szolgáló komposzt jóval szabályozottabb előállítása során bekövetkező mikrobiális szukcesszióról kevesebb tanulmány számol be, így kevesebb információ is áll a rendelkezésünkre (Székely és mtsai 2009).

A csiperketermesztésre szolgáló komposztot mezőgazdasági eredetű szerves hulladékból, jellemzően búzaszalmából és lótrágyából állítják elő, bőséges mennyiségű vizet, valamint a komposzt kémhatását és szerkezetét stabilizáló gipszet adva hozzá. A csiperke magas nitrogénigénye miatt a lótrágya mellett nitrogénben gazdagabb csirketrágyát, illetve szintetikus nitrogénvegyületeket (karbamid és ammónium-nitrát) is felhasználnak (Sánchez 2010, Vajna és mtsai 2012, Kertesz és Thai 2018). A mezőgazdasági eredetű szerves hulladékok nem csupán tápanyagok, hanem a komposztálás során jelentős szerepet játszó mikroorganizmusok forrásai is (Kertesz és Thai 2018). Bár a komposzt előállításához ránézésre egészséges növényi alapanyagokat használnak fel, azok legalább a látható tüneteket nem okozó endofiton gombák és baktériumok által minden bizonnyal fertőzöttek. Egyes endofiton mikroorganizmusok látens szaprotróf életmódot folytatnak, azaz a még élő növényi szöveteket fertőzik, kiterjedt kolonizációra azonban csak a szövetek előregedésével kerül sor. Ezáltal azonnal hozzáférnek a pusztuló növények könnyen lebontható tápanyagaihoz, előnyt élvezve a későbbiekben kolonizáló szaprotróf

szervezetekkel szemben (Porrás-Alfaro és Bayman 2011). Ráadásul, egyes endofiton gombák számos lebontó, így például különböző szénhidrátbontó enzimeket (CAZymes: „*carbohydrate active enzymes*”) is termelnek (Promputtha és mtsai 2010, Knapp és mtsai 2018). Következésképpen, a növényi alapanyagokat akár látens szaprotróf szervezeteként kolonizáló endofiton mikroorganizmusok, a trágyában előforduló mikroorganizmusokhoz hasonlóan, fontos szerepet tölthetnek be a csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállításában.

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállítása a növényi alapanyagok részleges komposztálásából (első fázis), hőkezeléséből (második fázis), majd a hőkezelt komposzt csiperkével történő átszövetéséből (harmadik fázis) áll (Kertész és Thai 2018, Carrasco és Preston 2020). A jellemzően egy-két hétig tartó első fázis során, a nyers növényi alapanyagok átnedvesítését és trágyával való összekeverését követően, intenzív biodegradáció zajlik. A már készülő komposztból kicsurgó, tápanyagokban és mikroorganizmusokban egyaránt gazdag, úgynevezett technológiai vízzel átitatott szalmában először a mezofil mikroorganizmusok szaporodnak fel, felemésztve a könnyen lebontható tápanyagokat, így a cukrokat és aminosavakat. Hőfelszabadulással járó anyagcserefolyamataik következtében a komposzt hőmérséklete 80 °C-ra nő, ami a termofil mikroorganizmusok felszaporodásához vezet. Utóbbi szervezetek elkezdik lebontani az olyan összetett szerves anyagokat, mint a cellulóz és a lignin (lignocellulóz), úgynevezett lignin-humusz komplexek képződését eredményezve. Mindennek következtében, az első fázis végére elfogynak a potenciálisan megjelenő káros mikroorganizmusok felszaporodását lehetővé tevő, könnyen hozzáférhető tápanyagok, ugyanakkor az összetett szerves anyagok lebontása is megkezdődik (Kertész és Thai 2018, Carrasco és Preston 2020). A második fázis főbb folyamatai a pasztörizálás és a kondicionálás. Míg a jellemzően két napig, 60 °C-on zajló pasztörizálás célja a káros mikroorganizmusok, rovarok és férgek elpusztítása, addig a jellemzően 5–8 napig, 45–50 °C-on zajló kondicionálás célja a káros mikroorganizmusok általi újbóli kolonizáció megakadályozása, a csiperke számára hasznos mikroorganizmusok, így például a *Mycothermus thermophilus* gomba felszaporodásának elősegítése. A második fázis során folytatódik az összetett szerves anyagok lebontása is (Kertész és Thai 2018, Carrasco és Preston 2020). A nitrogéntartalmú vegyületek lebontása során ammónia szabadul fel, mely bár kezdetben hozzájárul a növényi alapanyagok lágyításához, a későbbiekben elősegítheti a káros mikroorganizmusok általi kolonizációt, illetve gátolhatja a csiperke növekedését. Köszönhetően azonban az ammónia párolgásának és bizo-

nyos mikroorganizmusok, így például a tömegesen előforduló *Pseudoxanthomonas taiwanensis* baktérium általi asszimilációjának, koncentrációja a kondicionálás végére a csiperkére nézve ártalmatlan szintre csökken (Sánchez 2010, Kertesz és Thai 2018, Carrasco és Preston 2020). Az első és második fázis során végbemenő folyamatok egy, ha mikrobiológiailag nem is, de szerkezetileg homogén, a csiperke számára szelektív komposztot eredményeznek. A komposzt szelektivitása azt jelenti, hogy az a csiperke (másodlagos lebontó) számára hozzáférhető lignin-humusz komplexeket, valamint a csiperke növekedését serkentő mikroorganizmusokat tartalmaz, ugyanakkor nem tartalmaz ammóniát a csiperkére ártalmas koncentrációban. Ezek a csiperke számára előnyt biztosítanak más mikroorganizmusokkal szemben, a komposzt harmadik fázis során bekövetkező kolonizálásában (McGee és mtsai 2017). A jellemzően 15–18 napig tartó harmadik fázis során a szemcsíra (micéliummal átszövetett gabonaszemek) formájában hozzáadott csiperke teljesen átszövi a komposztot, a benne lévő lignin-humusz komplexekkel, valamint az élő és elhalt mikroorganizmusokkal táplálkozva (Kertesz és Thai 2018, Carrasco és Preston 2020).

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt mikrobiális közösségeivel foglalkozó kutatások keretében a komposzt előállítását (Cao és mtsai 2019), a gombatermesztést (Siyoun és mtsai 2016, McGee és mtsai 2017, Carrasco és mtsai 2019), esetleg mindkét tevékenységet (Zhang és mtsai 2014, Carrasco és mtsai 2020) nyomon követve határozzák meg a gombaközösségek összetételét, jellemzően tenyésztésfüggetlen módszerek alkalmazásával. A komposzt előállítását (is) nyomon követő kutatások keretében vett minták azonban jellemzően nem fedik le a gyártás teljes, a nyers növényi alapanyagoktól egészen a csiperketermesztésre kész, harmadik fázisú komposztig tartó folyamatát, illetve a gyártás egyes fázisait is jellemzően mindössze egy-egy minta reprezentálja. Igaz ez a komposzt kémiai összetételéről, jellemzően a növényi sejtfal felépítésében szerepet játszó polimereknek (cellulóz, hemicellulóz, lignin) és azok különböző módszerekkel kinyerhető frakcióinak a komposztgyártás és csiperketermesztés előrehaladtával bekövetkező mennyiségi változásairól beszámoló tanulmányokra is (Jurak és mtsai 2015, Carrasco és mtsai 2020).

Ahogyan a csiperketermesztésre szolgáló komposztot és nyers növényi alapanyagait, úgy a népi gyógyászatban és gyógyszeriparban felhasznált növényeket is kolonizálhatják endofiton gombák. E mikroorganizmusok mennyiségileg és minőségileg is befolyásol-

hatják a gyógynövények hatóanyagtartalmát, akár a gazdanövénynek tulajdonított hatóanyagok szintézise, vagy a szintézisük indukálása révén (Jia és mtsai 2016). Mindemellett, saját másodlagos anyagcseretermékeikkel is módosíthatják a kolonizált növényi részek metabolikus összetételét.

A gyógynövények egy részének a gyöktörzse, gyökerei jelentik a drogot, azaz a gyógyászati jelentőséggel bíró hatóanyagaik a gyöktörzsükben, gyökereikben halmozódnak fel. Ilyen gyógynövények például a hazánkban is honos festő buzér, tövises iglice és tarackbúza.

A festő buzér (*Rubia tinctorum*) egy a buzérfélék (Rubiaceae) családjába tartozó évelő, lágyszárú, rizómás (gyöktörzsszel rendelkező), gyógy- és festőnövény. Megvastagodott, vörösbarna gyökerei jelentik a drogot (*Rubiae tinctorum radix*), melyben antrakinon típusú vegyületek és glikozidjaik (alizarin és alizarin-primverozid, lucidin és lucidin-primverozid) halmozódnak fel. Vesekőképződés megelőzésére és a vesekövek oldására használható (Boldizsár és mtsai 2006).

A tövises iglice (*Ononis spinosa*) egy a pillangósvirágúak (Fabaceae) családjába tartozó ágtövises, rizómás félcserje. Rövid gyöktörzséről hosszú, vastag, szürkésbarna főgyökér ered. Gyökérzete jelenti a drogot (*Ononidis radix*), melyben elsősorban izoflavonoid típusú vegyületek és glikozidjaik (például formononetin és ononin) halmozódnak fel. Vizelethajtásra használható (Gampe és mtsai 2016).

A tarackbúza (*Elymus repens*) egy a pázsitfűfélék (Poaceae) családjába tartozó évelő, lágyszárú, rizómás növény. Hosszú, vékony, elágazó gyöktörzse (tarackja) jelenti a drogot (*Graminis rhizoma*), melyben elsősorban nyálkaanyagok halmozódnak fel. Vizelethajtásra használható (Al-Snafi 2015).

A Rubiaceae, Fabaceae és Poaceae családokba tartozó, elsősorban gazdasági jelentőséggel bíró növények endofiton gombáit több esetben azonosították már (Cruz és mtsai 2020, Rana és mtsai 2020). Ezzel szemben a fenti gyógynövények (festő buzér, tövises iglice és tarackbúza) gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveit kolonizáló endofiton gombák nem ismertek. Eddig csupán a tarackbúza föld alatti szerveinek, pontosabban a drognak nem minősülő gyökereinek endofiton gombaközösségét vizsgálták (Høyer és Hodkinson 2021). A festő buzér és a tövises iglice esetében csak a hajtásról azonosítottak kórokozó, illetve szaprotróf gombákat (Bahcecioglu és Kabaktepe 2012, Phookamsak és mtsai 2017), továbbá ismert, hogy a tövises iglice gyökérzetén él, termőtesteit e gyógynövény közelében képezi az iglice-fülfőke (*Flammulina ononidis*) (Łuszczynski és

mtsai 2014). Kovács és Szigetvári (2002) a kiskunsági nyílt homokpusztagyepek növényeinek mikorrhizaképző és egyéb gyökéraszociált gombák általi kolonizáltságát felmérve, tövises iglice gyökereiben a mikorrhizára jellemző struktúrák (arbuszkulum, vezikulum) mellett akár DSE gombák általi kolonizációra utaló szeptált hifákat is megfigyeltek (Kovács és Szigetvári 2002). Következésképpen, ahogy a pázsitfűfélék vékony gyökereit, úgy a fenti gyógynövények gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti, akár megvastagodott szerveit is kolonizálhatják endofiton gombák, melyeket azonban a legjobb tudásunk szerint még nem azonosítottak.

A festő buzér és a tövises iglice értékes, antrakinon és izoflavonoid típusú összetevők adta hatóanyagtartalmát az endofitonok minőségileg és mennyiségileg egyaránt befolyásolhatják, a tarackbúzát pedig kolonizálhatják a termesztésbe vont rokonait is kolonizálni képes, azokra akár pozitívan vagy negatívan ható másodlagos anyagcseretermékeket is előállító, ezáltal a mezőgazdasági vonatkozású kutatások számára is igen értékes endofiton gombák.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A különböző növények és ipari felhasználásra kerülő növényi alapanyagok endofiton gombáival és másodlagos anyagcseretermékeivel kapcsolatos doktori munkáim célkitűzései az alábbiak voltak:

- Pázsitfűfélék gyökereiből *Flavomyces fulophazii* és *Darksidea* izolátumok azonosítása, a *Darksidea* nemzetség taxonómiájának az izolátumok filogenetikai helyzetén, morfológiáján és metabolikus összetételén alapuló felülvizsgálata, valamint a *F. fulophazii* és *Darksidea* izolátumok másodlagos anyagcseretermékeinek meghatározása.
- A csiperketermesztésre szolgáló komposztból és növényi alapanyagaiból endofiton gombák izolálása és azonosítása, a növényi alapanyagok és az izolátumok másodlagos anyagcseretermékeinek meghatározása, komposztból történő kimutatása.
- A festő buzér, tövises iglice és tarackbúza gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből endofiton gombák izolálása és azonosítása, az izolátumok másodlagos anyagcseretermékeinek meghatározása és drogból történő kimutatása.
- Az izolált vegyületek *in vitro* biológiai, nevezetesen növényre gyakorolt, citosztatikus és antibakteriális aktivitásának tesztelése.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

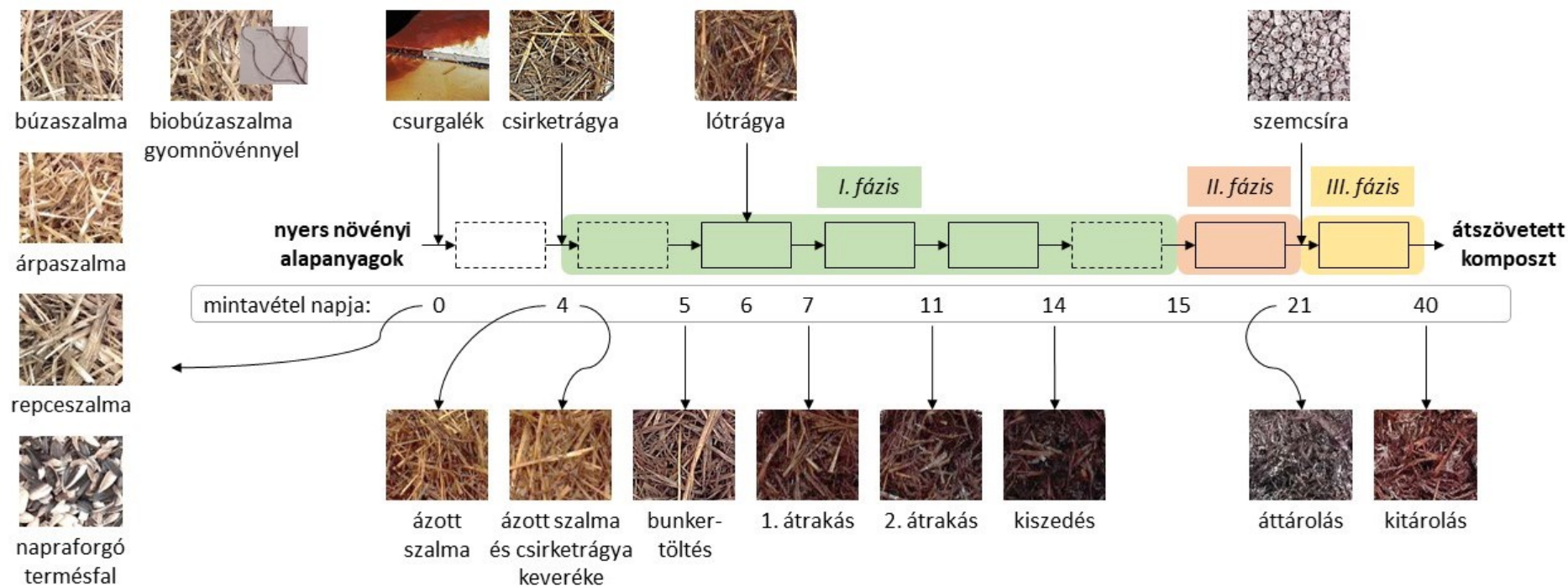
3.1 Mintavétel

A különböző földrajzi régiókban található száraz és félszáraz, füves, akár mezőgazdasági művelés alatt álló területek gyökérendofiton gombaközösségeinek tanulmányozása keretében Magyarországon *Festuca vaginata*, Mongóliában *Stipa krylovii*, Kazahsztánban pedig *Hordeum leporinum*, *S. capillata* és *Triticum aestivum* pázsitfűfélék egyedeit gyűjtöttük (Knapp és mtsai 2012, 2019, Akhmetova és mtsai 2023).

A csiperketermesztésre szolgáló komposztból és növényi alapanyagaiból a Bio-Fungi Kft. áparkai üzemében gyűjtöttünk mintákat, ahol a komposztgyártás az alábbiak szerint zajlik.

A komposzt nyers növényi alapanyagait (búza-, árpa- és repceszalma) elsőként átitatják a már készülő komposztból kicsurgó, tápanyagokban és mikroorganizmusokban gazdag technológiai vízzel (csurgaléklé). Néhány nappal később az ázott szalmát összekeverik csirketrágyával. A keveréket másnap egy zárt bunkerbe töltik (bunkertöltés), ahol később a lótrágyát is hozzáadják. A továbbiakban a komposztot néhány naponta, összesen kétszer, egymást követő bunkerekbe helyezik át (1. és 2. átrakás), majd kiszedik, s egy napig a szabadban pihentetik (első fázis). A komposztot ezután ismét egy zárt kamrába helyezik (betárolás), ahol a komposzthőmérséklet kiegyenlítését (egalizálás) követően nyolc órán át hőkezelik, majd több napon keresztül, szakaszosan lehűtik (kondicionálás) (második fázis). Az áttárolt komposztot csiperkével – szemcsíra formájában – beoltják, majd néhány hét alatt át is szövetik. A csiperkével átszövetett, gombatermesztésre alkalmas komposztot végül zsákokba csomagolják (kitárolás) (harmadik fázis) (1. ábra).

Összesen 71 mintát vettünk a komposztgyártás jellemző nyers növényi alapanyagaiból (5 minta), valamint hat gyártási sort (S1–S6) teljes egészében nyomon követve, a komposztgyártás különböző lépéseit reprezentáló, jellemzően szalma- és komposzthalmokból (66 minta). A hat gyártási sorból származó 66 minta magában foglalja a nyers és technológiai vízzel átitatott növényi alapanyagokat (15 minta), a különböző első, második és harmadik fázisú komposztmintákat (37 minta), valamint a komposztgyártás során hozzáadott csirke- és lótrágyát, illetve szemcsírárt (14 minta). A gyártási sorok közül hármát télen (S1, S2 és S6) kettőt ősszel (S4 és S5), egyet pedig nyáron (S3) követtünk nyomon.



1. ábra. Csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállítás (Bio-Fungi Kft., Magyarország, Áporka), valamint a komposztgyártás során vett minták eredete. A komposztgyártás nyitott környezetben zajló folyamatait (szalma áztatása, illetve a csirketrágyával kevert szalma és az első fázisú komposzt „pihentetése”) szaggatott, míg a zárt környezetben zajlókét (komposztálás, hőkezelés és átszövetés) egyszerű vonallal határolt téglalapok szimbolizálják. Az első, második és harmadik fázis folyamatait rendre zöld, piros és sárga háttérszín jelzi.

Fotók: Berek-Nagy Péter János (csurgaléklevet ábrázoló fotó: Tóth Fanni (ELTE, Mikrobiológiai Tanszék)).

Az egyes minták gyűjtésekor a szalma- és komposzthalmok különböző pontjairól almintákat vettünk, melyeket egyesítettünk, kézzel homogenizáltunk. A mintákat 4 °C-on tároltuk, s néhány napon belül különféleképpen feldolgoztuk. A mintákat és feldolgozásuk módjait az 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat. Csiperketermesztésre szolgáló komposztból és növényi alapanyagaiból vett minták és feldolgozásuk.

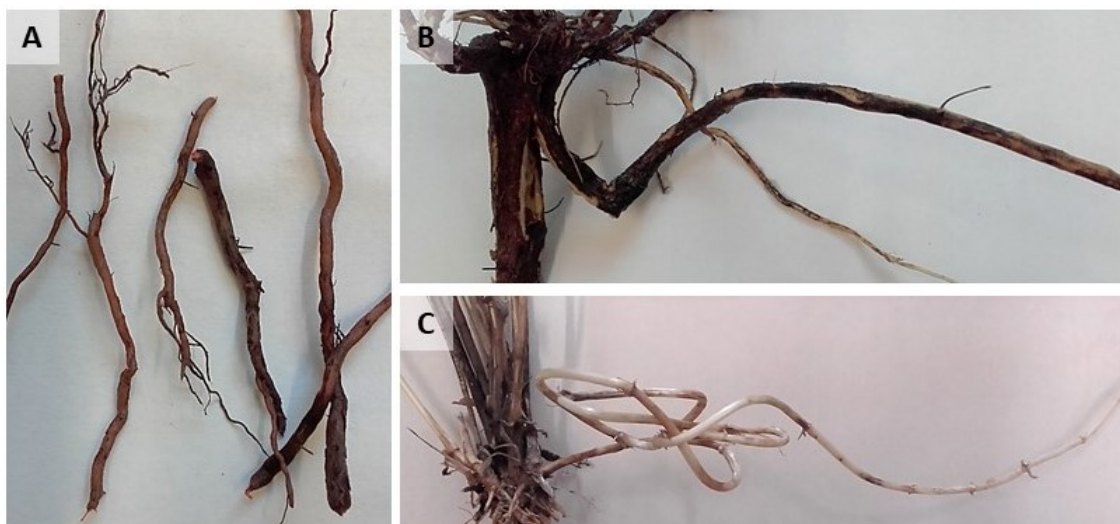
jellemző növényi alapanyagokból vett minták és feldolgozásuk							
búzaszalma	I, V						
biobúzaszalma	I, V						
árpaszalma	I, V						
repceszalma	I, V, M						
napraforgó termésfal	I, M						
komposztgyártás során vett minták és feldolgozásuk							
minta típusa és a mintavétel napja		gyártási sorok					
		S1	S2	S3	S4	S5	S6
búzaszalma	0.	-	-	M	M	M	M
árpaszalma	0.	-	-	M	-	-	-
ázott búzaszalma	4.	I	I	I, M	M	M	-
ázott árpaszalma	4.	I	I	I, M	-	-	-
ázott repceszalma	4.	I	I	-	-	-	-
csirketrágya	4.	I	I	I	M	M	-
ázott szalma és csirketrágya keveréke	4.	-	-	-	M	M	-
bunkertöltés	5.	I	I	I, M	I, M	I, M	I, M
lótrágya	6.	I	I	I	I, M	M	I, M
első átrakás	7.	I	I	I, M	I, M	I, M	I, M
második átrakás	11.	I	I	I, M	I, M	I, M	I, M
kiszedés	14.	I	I	I, M	I, M	I, M	I, M
áttárolás	21.	I	I	I, M	M	I, M	I, M
szemcsíra	21.	-	-	-	M	M	M
kitárolás	40.	I	I	I, M	-	M	I, M

Minták feldolgozásának módjai: endofiton gombák izolálása (I), gombák *in planta* vizualizálása (V), metabolikus összetétel meghatározása (M).

A technológiai vízben ázott szalmaminták kék, az első, második és harmadik fázis során vett komposzt-minták pedig rendre zöld, piros és sárga háttérszínnel vannak jelölve.

A gyógynövények közül a festő buzér egy egyedét a Gyógynövénykutató Intézet Budakalászi Kemotaxonómiai Botanikus Kertjében, a tövises iglice három egyedét Hűvös-völgyben, míg a tarackbúza négy egyedét Lágymányos területén gyűjtöttük. A véletlenszerűen kiválasztott, virágzó állapotban lévő egyedek föld alatti szerveit (2. ábra) kiástuk, nedves talajjal borítva 4 °C-on tároltuk, s néhány napon belül különféleképpen feldolgoztuk.

A szalma- és komposztmintákat, valamint a gyógynövényeket én, a többi növényt mások gyűjtötték (Knapp és mtsai 2012, 2019, Akhmetova és mtsai 2023).



2. ábra. Festő buzér (A), tövises iglice (B) és tarackbúza (C) föld alatti szervei feldarabolva (A) vagy egészben (B, C). Fotók: Berek-Nagy Péter János.

3.2 Endofiton gombák izolálása

A Magyarországon, Mongóliában és Kazahsztánban gyűjtött pázsitfűfélék gyökereit csapvízzel tisztára mostuk, majd néhány cm hosszú szakaszokra vágtuk. Ezeket a szakaszokat – 90 másodpercig 2%-os nátrium-hipoklorit oldatban (magyarországi minták) vagy két percig 30%-os hidrogén-peroxid oldatban (mongóliai és kazahsztáni minták), egy percig 70%-os etil-alkoholban, néhány percig pedig steril csapvízben inkubálva – felszínsterilizáltuk, majd négyfelé vágva MMN (*modified Melin-Norkrans*) (Marx 1969) (magyarországi és mongóliai minták) vagy PDA (*potato dextrose agar*) (VWR, Magyarország) (kazahsztáni minták) táptalajra helyeztük, sötétben és szobahőmérsékleten inkubáltuk (Knapp és mtsai 2012, 2019, Akhmetova és mtsai 2023).

A szalma- és komposztmintákban lévő különböző növényi részekből (gabonanövények szára, levele és kalásztengelye) maximum $0,5 \times 0,5$ cm nagyságú darabkákat vágunk ki. Ezeket a darabkákat – akár közvetlenül, de jellemzően steril csapvízzel mosva és felszínsterilizálva – PDA táptalajra helyeztük, majd sötétben, szobahőmérsékleten inkubáltuk. A szalmamintáknál erősebb, a komposztmintáknál enyhébb felszínsterilizálást alkalmaztunk. A legerősebb felszínsterilizálás esetén a kivágott darabkákat egy percig 96%-os etil-alkoholban, három percig 5%-os nátrium-hipoklorit oldatban, 30 másodpercig ismét 96%-os etil-alkoholban, majd néhány percig steril csapvízben inkubáltuk. A leggyengébb felszínsterilizálás esetén a darabkákat 15 másodpercig 70%-os etil-alkoholban, majd néhány percig steril csapvízben inkubáltuk.

A gyógynövények gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveit csapvízzel tisztára mostuk, majd néhány cm hosszú szakaszokra vágtuk. Ezeket a szakaszokat – két percig 4%-os nátrium-hipoklorit oldatban, egy percig 70%-os etil-alkoholban, néhány percig pedig steril csapvízben inkubálva – felszínsterilizáltuk, majd négyfelé vágva PDA táptalajra helyeztük, sötétben és szobahőmérsékleten inkubáltuk.

A táptalajra helyezett növényi részekből néhány nap elteltével növekedésnek indult micéliumokat külön táptalajra oltottuk, az így kapott tiszta tenyészeteket pedig rendszeres átoltásuk mellett sötétben, szobahőmérsékleten tartottuk fenn.

A szalma- és komposztmintákból, továbbá a gyógynövényekből én, a többi növényből mások izoláltak endofiton gombákat (Knapp és mtsai 2012, 2019, Akhmetova és mtsai 2023).

Az összehasonlító vizsgálatokhoz külföldi kutatócsoportok, elsősorban *Bouteloua* fajok (Poaceae) észak-amerikai füves területeken, illetve *Microthlaspi perfoliatum* (Brassicaceae) szerte Európában előforduló egyedeinek gyökereiből származó, zömmel igazoltan a *Darksidea* nemzetséget reprezentáló izolátumokat bocsátottak rendelkezésünkre (Glynou és mtsai 2016, Romero-Jiménez és mtsai 2022).

3.3 Endofiton gombák azonosítása

3.3.1 DNS régiók szekvenciáinak meghatározása

A különböző növényi részekből izolált gombák azonosításához a gombák általános DNS vonalkódját (Schoch és mtsai 2012), a sejtmagi riboszomális DNS (nrDNS) Internal Transcribed Spacer (ITS) régiójának szekvenciáját határoztuk meg. Ehhez DNS kivonatokat készítettünk a NucleoSpin Plant II Mini Kit (Macherey-Nagel, Düren, Németország), az E.Z.N.A. SP Fungal DNA Mini Kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA) vagy a módosított CTAB módszer (Murray és Thompson 1980, Kovács és mtsai 2001) alkalmazásával. Az ITS régiót polimeráz láncreakció (PCR) keretében, az ITS1F (Gardes és Bruns 1993) és ITS4 (White és mtsai 1990) primerek használatával szaporítottuk fel. A Phire Plant Direct PCR Kit, illetve ennek módosított változata, a Phire Plant Direct PCR Master Mix Kit (Thermo Scientific, USA) alkalmazása esetén a készlet részét képező Dilution puffer szolgált a DNS micéliumrészletből történő kinyerésére. A PCR elvégzéséhez Biometra T-Gradient 96 vagy Tianlong Genesys 96T típusú készüléket használtunk. A reakcióelegyek és -profilok részleteit a 11.1 fejezet (F.1.A–C táblázatok) tartalmazza. A PCR sikerességét agaróz gélelektroforézis segítségével ellenőriztük, mely során a PCR

termék egy részét etídium-bromid vagy ECO Safe fluoreszcens DNS festéket tartalmazó 1,5%-os agaróz gélen futtattuk, majd a gél UV fénnnyel történő átvilágításával detektáltuk. A PCR termékek szekvenálását a PCR során használt primerekkel az LGC Genomics (Berlin, Németország) végezte. A kapott elektroforegramokat a Staden programcsomag Pregap4 és Gap4 programjaival (Staden és mtsai 2000) ellenőriztük és szerkesztettük. A végleges szekvenciákat a BLASTn algoritmus (Altschul és mtsai 1990) alkalmazásával nyilvános adatbázisokban (GenBank; UNITE) elérhető szekvenciákkal vetettük össze, 2024 májusáig bezárólag. Az ITS szekvencia alapján fajsztint egyértelműen be nem azonosítható izolátumok nagy száma miatt izolátumainkat alapvetően nemzetségsztint azonosítottuk, fajsztintú azonosítás esetén az ITS és akár további szekvenciáink a típus- vagy referenciaszekvenciákkal teljes vagy nagymértékű egyezést mutattak.

Az ITS szekvenciájuk alapján a *Darksidea* nemzetség képviselőinek bizonyult izolátumok esetében meghatároztuk azok LSU (részleges 28S nrDNS), SSU (részleges 18S nrDNS), *TEF1- α* (transzlációs elongációs faktor 1- α gén) és *β TUB* (β -tubulin gén) szekvenciáit is. Az LSU régiót az LR0R (Rehner és Samuels 1994) és LR5 (Vilgalys és Hester 1990), az SSU régiót az NS1 és NS4 (White és mtsai 1990), a *TEF1- α* gént az EF1-983F és EF1-2218R (Rehner és Buckley 2005), a *β TUB* gént pedig a Bt2a és Bt2b (Glass és Donaldson 1995) primerek használatával amplifikáltuk és szekvenáltattuk.

A *Flavomyces fulophazii* izolátumok ITS, továbbá a *Darksidea* izolátumok ITS, LSU, SSU, *TEF1- α* és *β TUB* szekvenciáit feltöltöttük az NCBI (National Center for Biotechnology Information) GenBank adatbázisába, illetve felhasználtuk különböző, akár több-lókuszos filogenetikai elemzésekhez (Berek-Nagy és mtsai 2021, Knapp és mtsai 2015, 2019).

Mindemellett, nyilvános ITS szekvenciáik alapján azonosítottuk a *F. fulophazii* és *Darksidea* izolátumok termelte vegyületek publikált, ugyanakkor még nemzetségsztint sem azonosított forrásait.

3.3.2 Filogenetikai elemzések

A *F. fulophazii* faj Massarineae alrenden belüli filogenetikai helyzetének meghatározására egyes hazai és mongóliai eredetű *F. fulophazii* izolátumok, a Periconiaceae és Massarinaceae családokat reprezentáló egyes fajok, a CRI247-01 törzs, valamint a kül-

csoportként szolgáló *D. alpha*, *Keissleriella breviasca* és *Lentithecium clioninum* (Lentitheciaceae) ITS szekvenciáinak (40 szekvencia) felhasználásával „Maximum Likelihood” (ML) filogenetikai elemzést végeztünk.

A *Darksidea* nemzetség Lentitheciaceae családon belüli filogenetikai helyzetének meghatározására a nemzetség főbb leszármazási vonalait képviselő egy-egy izolátum, a Lentitheciaceae családot reprezentáló egyes fajok (Calabon és mtsai 2021, Liu és mtsai 2022), valamint a külcsoporként szolgáló *Pseudochaetosphaeronema martinelli* (Macrodiplodiopsidaceae), *F. fulophazii* és *P. macrospinosa* (Periconiaceae) ITS, LSU, SSU és *TEF1-α* szekvenciáinak (92 konkatenált szekvencia, 3885 karakter/konkatenált szekvencia) felhasználásával Bayes-alapú és ML filogenetikai elemzéseket végeztünk.

A *Darksidea* nemzetség izolátumaink reprezentálta leszármazási vonalainak meghatározására a rendelkezésünkre álló *Darksidea* izolátumok, továbbá a külcsoporként szolgáló *Lentithecium fluviatile* és *L. clioninum* (Lentitheciaceae) (Tanaka és mtsai 2015) ITS, LSU, *TEF1-α* és *βTUB* szekvenciáinak, valamint az illesztett ITS szekvenciák „indel” pozícióinak bináris kódolásával kapott mátrix (108 konkatenált szekvencia, 3460 karakter/konkatenált szekvencia) felhasználásával Bayes-alapú és ML filogenetikai elemzéseket végeztünk. Az illesztett ITS szekvenciák „indel” pozícióit Simmons és mtsai (2001) „simple indel coding” algoritmus alapján, a FastGap 1.2 program (Borchsenius 2009) segítségével kódoltuk.

A *Darksidea* nemzetség nyilvános szekvenciák reprezentálta leszármazási vonalainak meghatározására a *Darksidea* fajok típusörzseinek ITS szekvenciái, valamint az azokkal legalább 95%-ban azonos szekvenciák felhasználásával (510 szekvencia, 721 karakter/szekvencia) Bayes-alapú és ML filogenetikai elemzéseket végeztünk.

A gyógynövényekből származó *Cadophora* és *Leptodophora* izolátumok azonosítására a szóban forgó izolátumok, továbbá a *Cadophora*, *Leptodophora* és a velük közeli rokonságban álló nemzetségeket reprezentáló egyes fajok, valamint a külcsoporként szolgáló *Gyoerffyyella rotula* (Discinellaceae) (Koukol és Maciá-Vicente 2022) ITS szekvenciáinak (43 szekvencia, 560 karakter/szekvencia) felhasználásával ML filogenetikai elemzést végeztünk.

A különböző filogenetikai elemzések során felhasznált, nem általunk meghatározott, nyilvános szekvenciákat az NCBI GenBank adatbázisából töltöttük le. A *Darksidea* fajok típusörzseinek ITS szekvenciáival legalább 95%-ban azonos szekvenciák letöltéséhez a

típustörzsek ITS szekvenciáit a BLASTn algoritmus (Altschul és mtsai 1990) alkalmazásával vetettük össze az adatbázisban elérhető szekvenciákkal.

A szekvenciákat minden esetben a MAFFT 7 programban (Katoh és Standley 2013), az E-INS-i módszer alkalmazásával illesztettük, az illesztéseket pedig a MEGA 7 programban (Kumar és mtsai 2016) szerkesztettük. A többlókuszos elemzéseknél az egyes lókuszok illesztéseit, valamint az illesztett ITS szekvenciák „indel” pozícióinak bináris kódolásával kapott mátrixot a SeaView 5 programban (Gouy és mtsai 2021) egyesítettük (konkatenáltuk).

A Bayes-alapú elemzéshez a MrBayes 3.1.2 programot (Ronquist és Huelsenbeck 2003) használtuk. A nukleotid partíciók (ITS, LSU, SSU, *TEF1- α* , *β TUB*) esetében a GTR+G szubsztitúciós modellt, míg a bináris partíció esetében a kétparaméteres Markov (Mk2 Lewis) modellt alkalmaztuk. Négy Markov-láncot futtattunk 10.000.000 generáción keresztül, minden ezredik generáció esetében mintát véve, az első 4.000 filogenetikai fát figyelmen kívül hagyva („burn-in”). Az ágak támogatottságát a poszterior valószínűségi értékek kiszámításával határoztuk meg.

Az ML elemzéshez jellemzően a RAxML 8 program (Stamatakis 2014) raxmlGUI 1.3 grafikai felületét (Silvestro és Michalak 2012) használtuk. A nukleotid partíciók esetében a GTR+G szubsztitúciós modellt, a bináris partíció esetében pedig az alapbeállításokat alkalmaztuk. Az ágak támogatottsági értékeinek meghatározására 1.000 ismétléses „bootstrap” elemzést futtattunk. A *Cadophora* és *Leptodophora* izolátumok azonosítását célzó ML elemzéshez a PhyML 3.0 programot (Guindon és mtsai 2010) használtuk a GTR szubsztitúciós modell alkalmazásával, 100 ismétléses „bootstrap” elemzés futtatásával. A különböző elemzések során kapott filogenetikai fákat a MEGA 7 programban szerkesztettük.

3.4 Endofiton gombák morfológiai vizsgálata

A makro- és mikromorfológiai vizsgálatokhoz az izolátumokat MEA (*malt extract agar*) és PDA (*potato dextrose agar*) (VWR, Magyarország) táptalajon tenyésztettük három hétig, sötétben, szobahőmérsékleten. A spóráképzést indukálendő, az izolátumokat különböző típusú táptalajokon, illetve különböző növényi részeken (vizes agarra helyezett, sterilizált fenyőtű és csalánszár) tenyésztettük 1-2 hónapig, sötétben, szobahőmérsékleten. MEA és PDA mellett OA (*oatmeal agar*), SNA (*synthetic nutrient-poor agar*) (VWR, Magyarország) és MMN (*modified Melin-Norkrans*) (Marx 1969) táptalajokat,

valamint darált zöldségekkel (karalábé, sárgarépa, tarlórépa, zeller) dúsított vizes agart (pH 3,5) is alkalmaztunk.

Vizsgáltuk a tenyészetek makro- (pl. alak, méret és szín) és mikromorfológiai (pl. hifák szeptáltsága és pigmentáltsága) jellemzőit, ivaros és/vagy ivartalan szaporítóképletek előfordulását. A mikroszkópos felvételeket VHX-5000 digitális mikroszkóppal (Keyence International Nv/Sa, Belgium), a differenciál interferencia kontraszt (DIC) mikroszkópos felvételeket pedig Zeiss AxioCam ICc 5 kamerával felszerelt Zeiss Axioskop 2 Plus mikroszkóppal (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Németország), a Zeiss ZEN 2011 szoftver segítségével készítettük.

3.5 Endofiton gombák *in planta* vizualizálása

A komposztgyártás nyers növényi alapanyagaiból (búza-, biobúza-, árpa- és repce-szalma) maximum $0,5 \times 0,5$ cm nagyságú darabkákat vágunk ki. E darabkákat forrásban lévő 10%-os kálium-hidroxid:70%-os etil-alkohol (7:3) elegyben, 3%-os hidrogén-peroxid oldatban, majd 96%-os etil-alkoholban 3-3 percig derítettük. A derített darabkákat tintával (Pelikan[®], Németország) vagy a WGA-Alexa Fluor[®] 488 (Wheat Germ Agglutinin, Alexa Fluor 488 conjugate, Molecular Probes W11261, Thermo Fisher Scientific, Litvánia) fluoreszcensen jelölt lektinnel festettük, majd rendre tejsavban, vagy 50%-os glicerin oldatban fedtük le. A preparátumokat Nikon Eclipse 80i fénymikroszkóppal vizsgáltuk, a fényképeket Spot 7.4 Slider (Diagnostic Instruments Inc.) típusú kamerával készítettük.

3.6 Endofiton gombák és növényi alapanyagok vegyületeinek vizsgálata

3.6.1 Mintaelőkészítés

Az endofiton gombák izolátumait Petri-csészébe (60×15 mm) öntött, a *Mycothermus thermophilus* izolátumok esetében celofánnal borított PDA táptalajon szaporítottuk fel. A tenyészeteket jellemzően egy, a táptalaj közepén elhelyezett, egy korábbi tenyészet frontvonalából szikével kivágott tenyészetrészből ($0,5 \times 0,5$ cm) indítottuk, majd meghatározott ideig sötétben, szobahőmérsékleten inkubáltuk. A *Darksidea* izolátumokat három hétig, a *F. fulophazii*, valamint a gyógynövények föld alatti szerveiből származó izolátumokat egy hónapig, a *M. thermophilus* izolátumokat pedig 10 hétig tenyésztettük. Végül, a tenyészetek egészét, illetve a *M. thermophilus* izolátumok celofánról leválasztott micéliumait liofilizáltuk, majd porrá daráltuk.

A szalma- és komposztmintákat, illetve a gyógynövények gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveit liofilizáltuk, majd darálással porítottuk.

3.6.2 Kivonatkészítés

A növények és gombák másodlagos anyagcseretermékeinek meghatározására analitikai kivonatokat készítettünk: porított liofilizátumaik részleteit (10,0–40,0 mg) metil-alkohol oldószerben (3–5 mL), 60 °C hőmérsékleten, 30 percig melegítettük, a szobahőmérsékletűre hűlt kivonatokat centrifugáltuk.

Az összetevők izolálására preparatív kivonatokat készítettünk: a porított liofilizátumokat (0,9–6,8 g) metil-alkohol oldószerben (140–360 mL), 60 °C hőmérsékleten, 30 percig melegítettük egymás után háromszor, a kivonatokat mindhárom alkalommal centrifugálva, a felülúszókat külön edényben gyűjtve. Az egyesített felülúszókat rotációs vákuumbepárló készülékkel megszáritottuk, majd ultrahangos homogenizáló készülékkel, 5–10 mL metil-alkohol oldószerben feloldottuk. A csapadékos oldatot centrifugáltuk, a felülúszót 0,22 µm pórusátmérőjű szűrővel szűrtük.

A felhasznált oldószerek és vegyszerek analitikai, illetve LC-MS tisztaságúak voltak (Reanal, Magyarország).

3.6.3 Analitikai kivonatok vizsgálata

Az analitikai kivonatok összetevőit nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) elválasztást követően UV- és nagyfelbontású tömegspektrometriás detektálással határoztuk meg (HPLC-DAD-HRMS). Ehhez Dionex Ultimate 3000 UHPLC rendszert (3000RS diódasoros detektor (DAD), TCC-3000RS oszloptermosztát, HPG-3400RS pumpa, SRD-3400 eluens-gázmentesítő, WPS-3000TRS automata mintaadagoló) és elektropray ionizációval (ESI) működő Orbitrap Q Exactive Focus tömegspektrométert (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) használtunk. Az összetevők elválasztását Kinetex C18 oszlopon (75 × 3 mm, 2,6 µm) (Phenomenex, USA) végeztük 0,3 mL/perc áramlási sebesség és 25 °C oszlophőmérséklet mellett, az alábbi eluensek használatával. „A” eluens: 0,1% V/V hangyasav, „B” eluens: acetonitril:0,1% V/V hangyasav (80:20, V/V). A különböző mintákhoz különböző gradiens programokat alkalmaztunk az alábbiak szerint.

Flavomyces fulophazii izolátumok: 0,0 perc, 10% B; 12,0 perc, 70% B.

Darksidea izolátumok: 0,0 perc, 20% B; 10 perc, 70% B; 12,0 perc, 90% B; 13,5 perc, 90% B; 14,0 perc, 20% B; 16,0 perc, 20% B.

Csiperketermesztésre szolgáló komposzt és növényi alapanyagai: 0,0 perc, 20% B; 10 perc, 80% B.

Mycothermus thermophilus izolátumok és áttárolás stádiumú komposztminták: 0,0 perc, 20% B; 10,0 perc, 70% B; 12,0 perc, 90% B; 13,5 perc, 90% B; 14,0 perc, 100% B; 18,0 perc, 100% B.

Gyógynövények föld alatti szervei és endofiton gombái: 0,0 perc, 20% B; 10,0 perc, 70% B; 12,0 perc, 90% B; 13,5 perc, 90% B; 14 perc, 20% B.

A minták 1,0–5,0 µL térfogatát injektáltuk. Az UV spektrumokat 230–600 nm hullámhossztartományban vettük fel, kivéve a *F. fulophazii* izolátumok (250–600 nm), valamint a csiperketermesztésre szolgáló komposzt és növényi alapanyagai (250–800 nm) esetében. A tömegspektrumokat pozitív és negatív ionizációs módban (switching mode) vettük fel, a tömegspektrométer működési paramétereit a beépített szoftver az áramlási sebességhez automatikusan optimalizálta. A detektált ionok tömegét tömeg/töltés (m/z) értékek formájában adjuk meg.

3.6.4 Vegyületek izolálása és azonosítása

A preparatív kivonatok összetevőit preparatív HPLC technikával izoláltuk. Ehhez Pharmacia LKB HPLC (Uppsala, Svédország) rendszert (2248 pumpák, VWM 2141 UV detektor) használtunk. Az összetevőket Gemini C6-phenyl (100 × 21,2 mm, 5 µm) vagy Gemini NX-C18 (150 × 21,2 mm, 5 µm) preparatív oszlopon (Phenomenex, USA), 5 mL/perc áramlási sebesség és 20–25 °C oszlophőmérséklet mellett, az alábbi eluensek használatával választottuk el egymástól. „A” eluens: 0,1% V/V hangyasav, „B” eluens: acetonitril. A vegyületek izolálására a különböző oszlopok mellett különböző gradiens programokat is alkalmaztunk az alábbiak szerint.

Vermelhotin, hidroxivermelhotin, flavoklorin A és G: 0,0 perc, 10% B; 20,0 perc, 70% B a C6-phenyl oszlopon.

Petaszol, izopetaszol, 3-epi-petaszol, oxidált petaszol: 0,0 perc, 30% B; 30,0 perc, 30% B; 50,0 perc, 50% B a C6-phenyl oszlopon.

Oxidált izopetaszol: 0,0 perc, 30% B; 60,0 perc, 30% B az NX-C18 oszlopon.

Aszkomikon A és B, 6-deoxibosztrikoidin és fomopszidin: 0,0 perc, 40% B; 15,0 perc, 40% B; 20,0 perc, 50% B; 50,0 perc, 70% B; 70,0 perc, 70% B az NX-C18 oszlopon.

Monocerin: 0,0 perc, 50% B; 15,0 perc, 70% B; 18,0 perc, 70% B a C6-phenyl oszlopon.

PF1092C és C-2 epimerje: 0,0 perc, 25% B; 50,0 perc, 30% B az NX-C18 oszlopon.

Epikokkamid A és D, valamint mannuronsavas származékaik: 0,0 perc, 50% B; 10,0 perc, 50% B; 40,0 perc, 70% B; 65,0 perc, 70% B az NX-C18 oszlopon.

F2928-1 és F2928-2: 0,0 perc, 55% B; 10,0 perc, 58,8% B; 40,0 perc, 70% B az NX-C18 oszlopon.

A vegyületeket a preparatív kivonatok 500 μ L térfogatait injektálva, a vegyületek elnyelési maximumával megegyező hullámhosszúságú UV detektálás mellett izoláltuk. Az izolált vegyületek szerkezetét nagyfelbontású tandem tömegspektrometria (HRMS/MS), illetve mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópia módszerekkel határoztuk meg. A HRMS/MS módszer alkalmazása során 10–75 eV ütközési energiákkal fragmentáltuk vegyületeinket.

Az NMR méréseket és az NMR spektrumok elemzését Kraszni Márta és Tóth Gergő (Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet), valamint Darcsi András (Országos Gyógyszerészeti és Élelmezés-egészségügyi Intézet) végezték.

3.6.5 Vegyületek mennyiségi meghatározása

A vegyületek mintákban előforduló mennyiségét HPLC-MS módszerrel, a vegyületek protonált ionjainak intenzitását figyelembe véve, ismert koncentrációjú standardok (izolált vegyületek oldatai) mérése alapján készített kalibrációs görbék felhasználásával határoztuk meg (külső standard kalibrációs módszer). A nem izolált vegyületek mennyiségét az izolált, rokon szerkezetű vegyületek kalibrációs görbéi alapján határoztuk meg.

A komposzt növényi alapanyagaiban azonosított vegyületeknek a komposztgyártás előrehaladtával bekövetkező mennyiségi változásait a vegyületek komposztgyártás során előforduló legnagyobb mennyiségéhez (100%) viszonyítva, százalékban kifejezve állapítottuk meg, a vegyületek protonált ionjainak intenzitását alapul véve.

3.6.6 Petaszol izomerizációjának vizsgálata

Petaszol 0,02 mg tömegű mennyiségeit 100 μ L desztillált vízzel, vagy 100 μ L 0,2 M trifluorecetsav (TFE) oldattal, vagy 100 μ L 0,2 M ammónium-hidroxid oldattal kezeltük 100 °C hőmérsékleten, 15 percen keresztül, zárt üvegedényekben.

Petaszol 0,02 mg tömegű mennyiségeit 100 μ L 0,2 M, vagy 100 μ L 2,0 M TFE oldattal kezeltük 100 °C hőmérsékleten, 7,5, 15, 30 és 60 percen keresztül, zárt üvegedényekben.

Kezelést követően, az üvegedényekben lévő oldatokat liofilizáló készülékkel megszáritottuk, majd 200 μ L metil-alkohol oldószerben feloldottuk, összetételüket analitikai HPLC technikával meghatároztuk.

3.7 Vegyületek *in vitro* biológiai aktivitásának tesztelése

3.7.1 Növényre gyakorolt hatás

3.7.1.1 Salátamagvak csírázására gyakorolt hatás

Lactuca sativa L. var. capitata „Attrakció” (Rédei Kertimag, Magyarország) magjait desztillált vízzel mostuk, majd ötösével Petri-csészékbe (90 × 15 mm), szűrőpapírra helyeztük (ø 75 mm, VWR, Magyarország). A magvakat 1,9 mL, a tesztelt vegyületek 1,0–100 µM koncentrációjú oldataival vagy desztillált vízzel kezeltük öt napig, szobahőmérsékleten, természetes megvilágítás mellett (Priac és mtsai 2017).

3.7.1.2 Békalencse növekedésére gyakorolt hatás

Lemna minor L. (9441-es klón) Steinberg tápoldatban előnevelt egyedeit (Naumann és mtsai 2007) 24-lukú tenyésztő lemez – 1,9 mL tápoldatot vagy a tesztelt vegyületek tápoldattal készült, 1–150 µM koncentrációjú oldatait tartalmazó – zsebeibe helyeztük (6–7 levél, azaz 2–3 egyed/zseb), majd hét napig fényszekrényben, 16 órás megvilágítás mellett, 24 °C-on inkubáltuk (Vanhoutte és mtsai 2017).

A növényekről készített fotókon a saláta gyökér- és hipokotilhosszát, valamint a békalencse leveleinek zsebenkénti számát és összterületét az ImageJ (NIH, USA) program segítségével határoztuk meg (Schneider és mtsai 2012). A vegyületek növényekre gyakorolt hatásait statisztikai módszerekkel (ANOVA, Kruskal-Wallis, Tukey-féle post hoc teszt), a Prism v.8.0.1 (GraphPad, USA) program segítségével értékeltük ki.

A kísérleteket és az eredmények kiértékelését Csíkos Sándor (ELTE BI, Növénysszervezettani Tanszék) végezte.

3.7.2 Citosztatikus hatás

A vegyületeket 12 daganatos és egy egészséges sejtvonalon, a 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid (MTT) módszerrel teszteltük. Az alkalmazott sejtvonalak az alábbiak voltak: A2058 (humán, melanóma), A431 (humán, epidermoid karcinóma), EBC-1 (humán, nem-kissejtes tüdő karcinóma), H838 (humán, tüdő adenokarcinóma), HEK-293 (humán, embrionális vese), HepG2 (humán, hepatocelluláris karcinóma), HL-60 (humán, promielocitikus leukémia), HT-29 (humán, kolorektális adenokarcinóma), LCLC-103H (humán, nagysejtes tüdő karcinóma), MonoMac-6 (hu-

mán, monocitikus leukémia), SH-SY5Y (humán, neuroblasztóma), U87 (humán, glioblasztóma) és VERO E6 (*Cercopithecus aethiops*, nem tumor eredetű, vese, epiteliális sejtek).

A 96-lukú tenyésztő lemezre előzetesen felvitt sejteket (5.000 sejt/zseb/100 µL teljes tápközeg) $1,28 \times 10^{-3}$ –100 µM koncentrációtartományban, 24 órán keresztül kezeltük vegyületeinkkel. A kezelést követően a sejteket szérummentes tápközeggel mostuk, majd teljes tápközegben tenyésztettük további 72 órán keresztül. Ezután MTT oldatot adtunk a sejtekhez, majd 3,5 órás inkubációt követően a lemezeket centrifugáltuk, a felülúszókat eltávolítottuk. Az élő sejtek metabolikus aktivitása következtében az MTT vegyületből kialakult lila kristályokat dimetil-szulfoxid (DMSO) oldószerrel oldottuk ki. A citosztázis mértékét a zsebekben mért optikai denzitás (OD) értékekből, a „citosztázis (%) = $100 \times (1 - \text{OD}_{\text{kezelt sejtek}} / \text{OD}_{\text{kezeletlen sejtek}})$ ” képlet segítségével határoztuk meg, előzetesen kivonva a háttér 620 nm-en mért elnyelését az MTT átalakulási termékeinek 540 nm-en mért elnyeléséből ($\text{OD}_{540} - \text{OD}_{620}$). A citosztázis mértékét a vegyületek koncentrációja függvényében, a Microcal™ OriginPro szoftverrel ábrázoltuk, az így kapott görbék alapján határoztuk meg a tesztelt vegyületek IC₅₀ értékeit (Berek-Nagy és mtsai 2021).

A kísérleteket és az eredmények kiértékelését Bősze Szilvia (ELTE Kémiai Intézet, Szerves Kémiai Tanszék, Peptidkémiai Kutatócsoport) végezte.

3.7.3 Antibakteriális hatás

A vegyületeket *Staphylococcus aureus* MRSA ATCC 33591, *S. aureus* MSSA ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 és *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 törzsekkel szemben, mikrodilúciós módszerrel teszteltük. A dimetil-szulfoxid (DMSO) oldószerben felvett vegyületekből, Müller-Hinton (MH) tápleves felhasználásával, 200–0,39 µM, sorra feleakkora koncentrációjú oldatokat állítottunk elő. Fiziológias sóoldat felhasználásával 0,5 McFarland töménységű baktériumszuszpenziókat hoztunk létre, melyeket MH táplevessel a százszorosukra hígítottunk. A vegyületek különböző koncentrációjú oldatait és a hígított baktériumszuszpenziókat 96-lukú tenyésztő lemezek zsebeibe adagoltuk 50-50 µL mennyiségben. A növekedési kontrollként szolgáló zsebekbe 50 µL hígított baktériumszuszpenziót és 50 µL MH táplevest, a steril kontrollként szolgálókba 100 µL MH táplevest adagoltunk. A tenyésztő lemezeket egy éjszakán át, állandó hőmérsékleten inkubáltuk, majd szemrevételezéssel, illetve 595 nm-en mért OD értékek alapján határoztuk meg a baktériumok növekedését.

tuk meg az egyes vegyületek minimális gátló koncentrációját (*minimal inhibitory concentration* (MIC)). MIC alatt egy vegyület azon legkisebb koncentrációját értjük, mely már gátolja a baktérium látható mértékű felszaporodását.

A kísérleteket és az eredmények kiértékelését Dobay Orsolya (Semmelweis Egyetem, Orvosi Mikrobiológiai Intézet) és Kovács M. Gábor (ELTE BI, Növény szerkezettani Tanszék) végezték.

4. EREDMÉNYEK

4.1 Endofiton gombák izolálása és azonosítása

Eurázsia különböző területein gyűjtött pázsitfűfélék gyökereiből, csiperketermesztésre szolgáló komposztból és növényi alapanyagaiból, valamint egyes gyógynövények gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből endofiton gombákat izoláltunk. Az izolátumok azonosításához meghatároztuk azok ITS és akár további DNS régióinak szekvenciáit, mely szekvenciák felhasználásával akár filogenetikai elemzéseket is végeztünk.

4.1.1 Sötét szeptált endofiton gombák

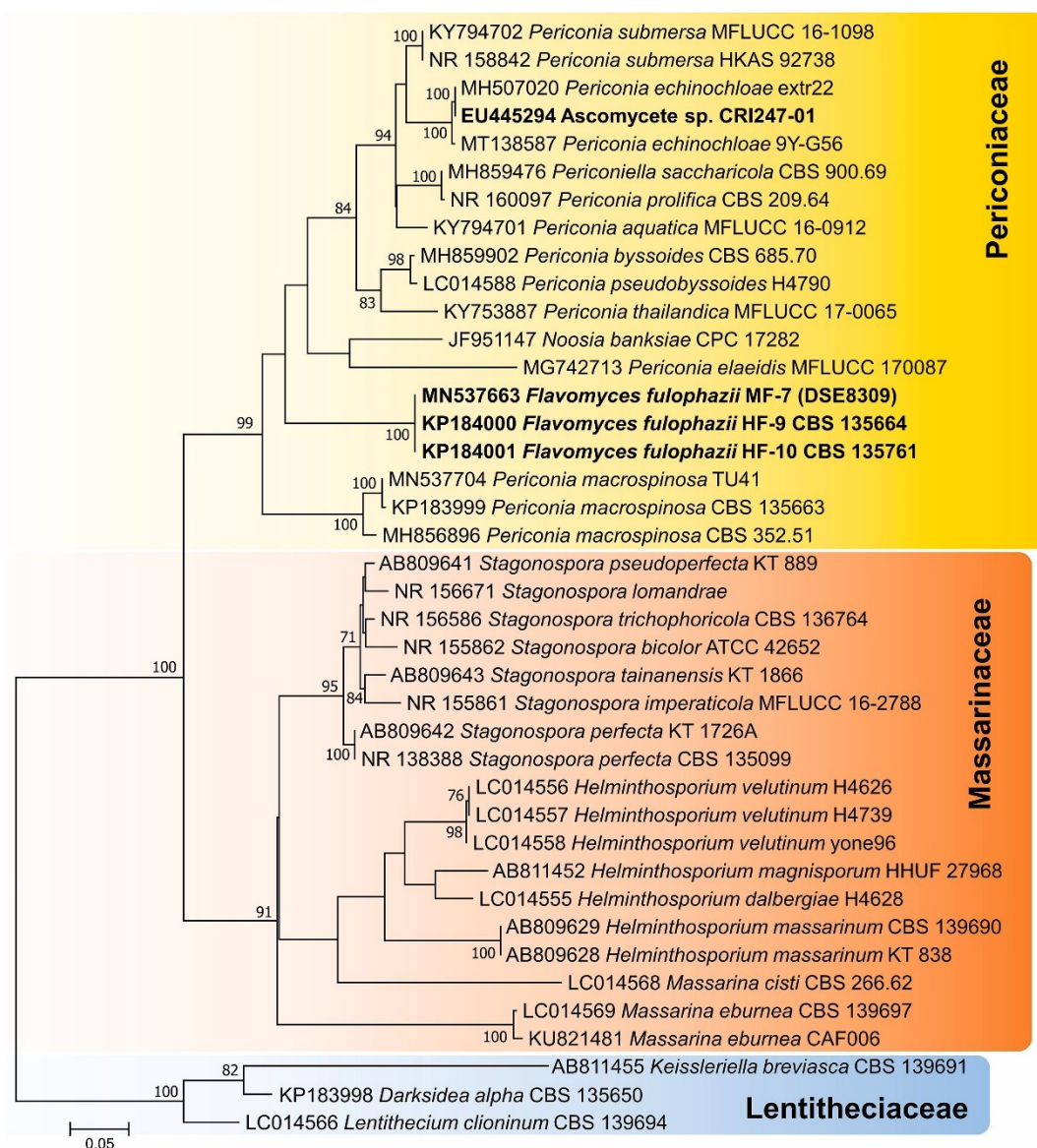
4.1.1.1 *Flavomyces fulophazii* izolátumok

A Magyarországon, Mongóliában és Kazahsztánban található száraz és félszáraz füves területek gyökérendofiton gombaközösségeinek tanulmányozása során, a Knapp és mtsai (2015) által két hazai izolátum alapján leírt *F. fulophazii* faj további nyolc izolátumát azonosítottuk Magyarországon gyűjtött *Festuca vaginata*, illetve hét izolátumát Mongóliában gyűjtött *Stipa krylovii* pázsitfűfélék gyökereiből. Az így rendelkezésünkre álló 17 *F. fulophazii* izolátum (F.2. táblázat) ITS szekvenciái azonosnak bizonyultak, az ezek felhasználásával végzett filogenetikai elemzés megerősítette e faj Massarineae alrendben, azon belül pedig a Periconiaceae családban elfoglalt helyzetét (3. ábra) (Knapp és mtsai 2015, 2019, Berek-Nagy és mtsai 2021).

4.1.1.2 *Darksidea* izolátumok

A Knapp és mtsai (2015) által leírt *Darksidea* nemzetség 33 izolátumát azonosítottuk Mongóliában gyűjtött *S. krylovii*, egy izolátumát Magyarországon gyűjtött *F. vaginata*, öt izolátumát pedig Kazahsztánban gyűjtött *Hordeum leporinum*, *S. capillata* és *Triticum aestivum* pázsitfűfélék gyökereiből (Knapp és mtsai 2019). A külföldi kutatócsoportok által rendelkezésünkre bocsátott, elsősorban *Bouteloua* fajok (Poaceae) észak-amerikai füves területeken, illetve a *Microthlaspi perfoliatum* (Brassicaceae) szerte Európában előforduló egyedeinek gyökereiből származó, összesen 65 izolátum közül 64 korábban (Glynou és mtsai 2016, Romero-Jiménez és mtsai 2022), egy spanyolországi, *F. rubra* subsp. *pruinosa* (Poaceae) gyökeréből származó izolátum pedig jelen munkáink keretében lett a *Darksidea* nemzetség képviselőjeként azonosítva. A Magyarországról, Mongóliából és Kazahsztánból származó, a kutatócsoportunk által jelen vagy korábbi munkáink során izolált (Knapp és mtsai 2012, 2015, 2019), valamint az Észak-Amerikából és szerte

Európából származó, külföldi kutatócsoportok által rendelkezésünkre bocsátott izolátumokkal együtt egy összesen 106 *Darksidea* izolátumból álló gyűjteményre tettünk szert (F.3. táblázat).



3. ábra. A Periconiaceae és Massarinaceae családokat (Massarineae, Pleosporales) reprezentáló törzsek nrDNS ITS szekvenciái alapján készült maximum likelihood (ML) filogenetikai fa. Az ML elemzés során kapott bootstrap értékek ($\geq 70\%$) az elágazásoknál láthatók. A fajnevek előtt a szekvenciák NCBI GenBank azonosítója, mögöttük pedig a törzsek kódja szerepel. Az elemzéshez felhasznált *Flavomyces fulophazii* izolátumok, valamint a vermelhotin vegyület forrásaként számon tartott CRI247-01 törzs (Kasettrathat és mtsai 2008) vastagon vannak szedve. A Periconiaceae és Massarinaceae családokat reprezentáló törzsek citromsárga és narancssárga, míg a kulcsoportként felhasznált törzsek (Lentitheciaceae) kék háttérszínnel vannak jelölve. Mércse: várható változás/pozíció/ág. Berek-Nagy és mtsai (2021) 1. ábra.

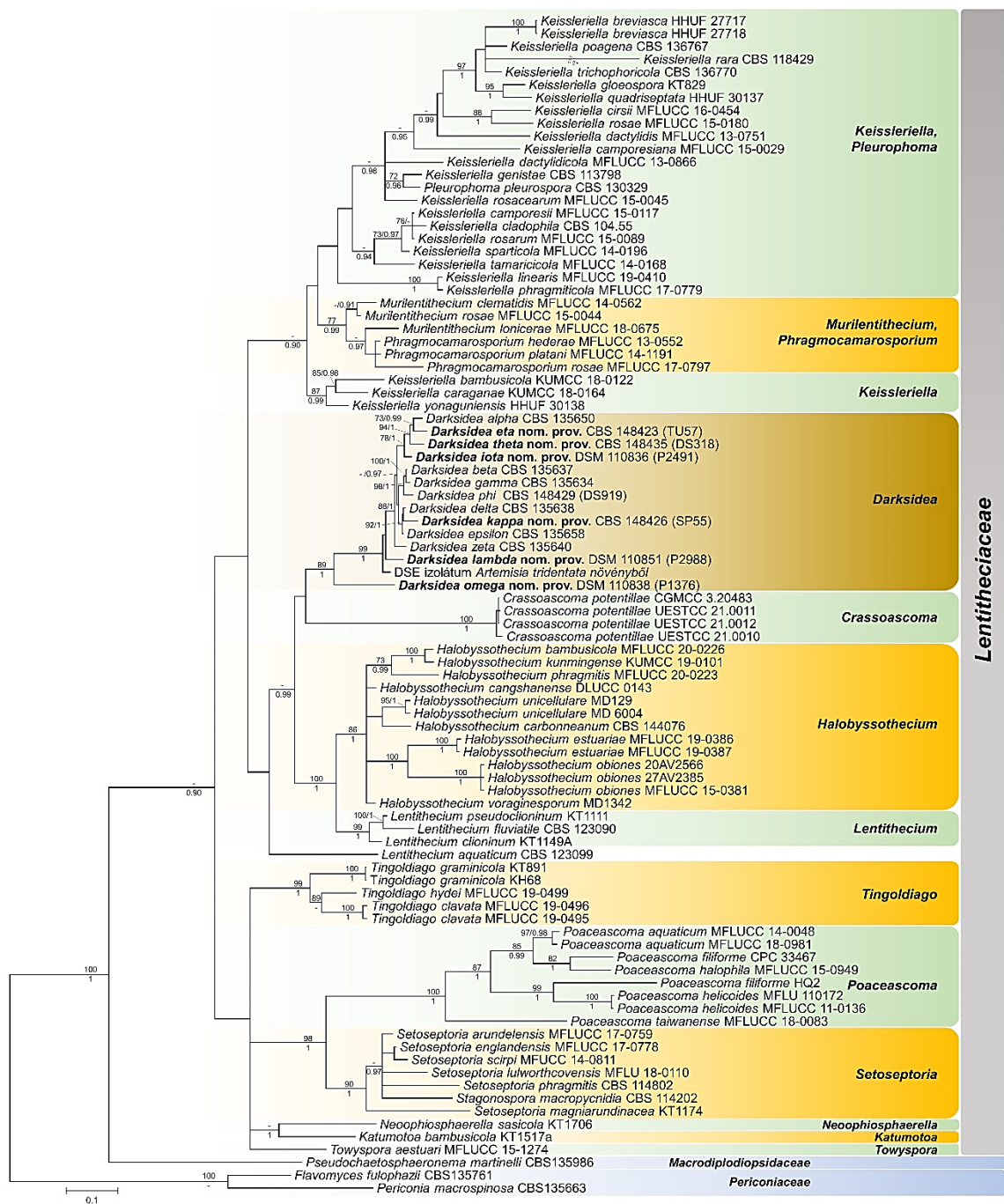
Meghatároztuk mind a 106 *Darksidea* izolátum ITS, LSU, SSU, *TEF1-α* és *βTUB* szekvenciáit, amennyiben azok nem álltak rendelkezésünkre korábbi tanulmányokból. E szekvenciák felhasználásával a nemzetség *Lentitheciaceae* családon belüli helyzetének megállapítása, valamint a nemzetségen belüli leszármazási vonalak megkülönböztetése céljából család- és nemzetségszintű filogenetikai elemzéseket végeztünk.

A főbb *Darksidea* leszármazási vonalakat képviselő egy-egy izolátum ITS, LSU, SSU és *TEF1-α* szekvenciáinak felhasználásával végzett családszintű filogenetikai elemzés megerősítette a *Darksidea* nemzetség *Lentitheciaceae* családban elfoglalt helyzetét, az elemzés alapján a *Darksidea* nemzetség a *Crassoascoma* és *Halobyssothecium* nemzetségekkel, illetve a *Lentithecium clioninum*, *L. pseudoclioninum* és *L. fluvatile* fajokkal együtt képez egy leszármazási vonalat (4. ábra).

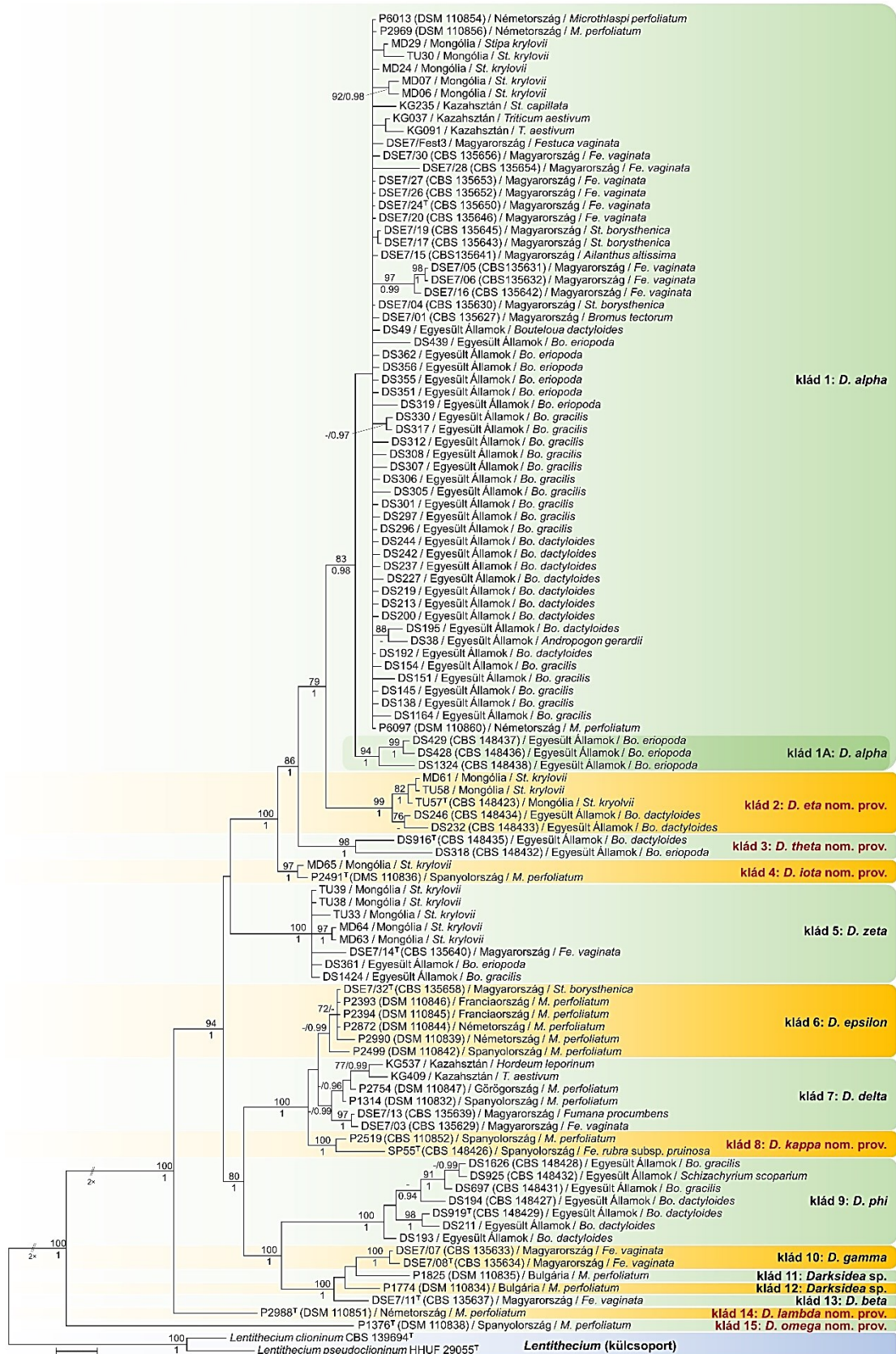
Az izolátumok ITS, LSU, *TEF1-α* és *βTUB* szekvenciái, illetve az ITS szekvenciák „indel” pozícióinak bináris kódolásával kapott mátrix felhasználásával végzett nemzetségszintű filogenetikai elemzés alapján a 106 *Darksidea* izolátum 15 leszármazási vonalat (kládot) (1–15) képez (5. ábra). Egyes kládok megfeleltethetők a hét korábban leírt *Darksidea* fajnak (*D. alpha*, *D. beta*, *D. gamma*, *D. delta*, *D. epsilon*, *D. zeta* és *D. phi*), míg más kládok új fajokat reprezentálhatnak. Az 1-es kládot alkotja az izolátumok többsége, 61 izolátum, köztük a *D. alpha* típus törzse. A kládon belül három izolátum egy magas támogatottságú alkládot (1A alklád) képez. Az 1-es klád és az öt izolátum alkotta 2-es, valamint a két-két izolátumot számláló 3-as és 4-es kládok a nemzetségen belül egy teljes támogatottságú (ML-BS = 100 és B-PP = 1) csoportot képeznek. Az 5-ös kládot nyolc izolátum alkotja, köztük a *D. zeta* típus törzse. A *D. epsilon* és a *D. delta* típus törzsével együtt hat-hat izolátumot számláló 6-os és 7-es kládok a két izolátum alkotta 8-as kláddal együtt egy további, teljes támogatottságú csoportot képeznek. A *D. phi* típus törzsével együtt hét izolátumot számláló 9-es klád egy harmadik teljes támogatottságú csoportot képez a mindössze egy-két izolátumot számláló 10-es, 11-es, 12-es és 13-as kládokkal együtt. Utóbbiak közül a 10-es klád tartalmazza a *D. gamma* típus törzsét, míg a 13-as kládot a *D. beta* típus törzse adja. A 11-es és 12-es kládokat adó egy-egy izolátumot, bizonytalan filogenetikai helyzetük miatt, kizártuk a további taxonómiai munkákból. A nemzetség alapi leszármazási vonalait adó 14-es és 15-ös kládokat egy-egy izolátum reprezentálja.

Az izolátumaink különböző szekvenciáin alapuló nemzetségszintű filogenetikai elemzés eredményeként tehát, a hét korábban leírt *Darksidea* fajt reprezentáló hét klád mellett

további nyolc – a 11-es és 12-es kládok kizárása folytán hat feltehetően új fajt reprezentáló – leszármazási vonalat azonosítottunk (5. ábra).



4. ábra. A Lenthithecaceae család (Massarineae, Pleosporales) reprezentatív szekvenciái alapján készült filogenetikai fa. Az 50%-os többségi konszenzus fa négy lokusz (ITS, LSU, SSU és *TEF1-α*) kombinált adatsorának Bayes-alapú filogenetikai elemzésével készült. A maximum likelihood elemzés során kapott bootstrap értékek ($\geq 70\%$) az ágak fölött vagy a törtvonalak előtt, míg a Bayes-alapú elemzés során kapott posztterior valószínűségi értékek ($\geq 0,90$) az ágak alatt vagy a törtvonalak mögött láthatók. A Lenthithecaceae család egyes nemzetségeit reprezentáló törzsek sárga és zöld, míg a külsőportként felhasznált törzsek (Macrodiplodiopsidaceae és Periconiaceae) kék háttérszínnel vannak jelölve. A jelen munkánk keretében azonosított új *Darksidea* fajok vastagon vannak szedve. Mércse: várható változás/pozíció/ág.



5. ábra. A munkáink során vizsgált 106 *Darksidea* izolátum szekvenciái alapján készült filogenetikai fa. Részletek a következő oldalon.

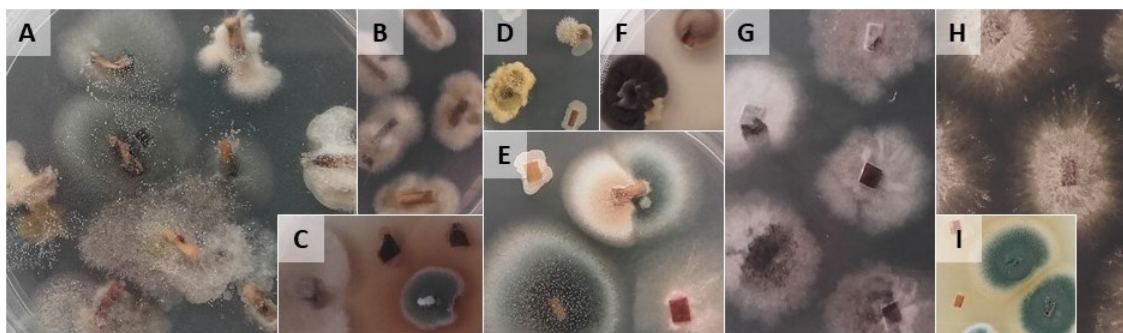
5. ábra folytatása. Az 50%-os többségi konszenzus fa négy lókuszt (ITS, LSU, *TEF1-α*, *βTUB*), valamint az illesztett ITS szekvenciák „indel” pozícióinak bináris kódolásával kapott mátrix kombinált adatsorának Bayes-alapú filogenetikai elemzésével készült. A maximum likelihood elemzés során kapott bootstrap értékek ($\geq 70\%$) az ágak fölött vagy a törtvonalak előtt, míg a Bayes-alapú elemzés során kapott posztterior valószínűségi értékek ($\geq 0,90$) az ágak alatt vagy a törtvonalak mögött láthatók. Az izolátumok kódja mellett azok törzsszáma, származási helye és gazdanövénye szerepelnek. A „T” betűvel megjelölt törzsek típus-törzsek. A *Darksidea* nemzetség egyes leszármazási vonalait (fajait) reprezentáló izolátumok sárga és zöld, míg a külcsoporthként felhasznált törzsek (*Lentithecium*) kék háttérrel vannak jelölve. A jelen munkáink keretében azonosított új *Darksidea* fajok pirossal vannak szedve. Mércse: várható változás/pozíció/ág.

A *Darksidea* fajok típus-törzseinek ITS szekvenciái, valamint az azokkal legalább 95%-ban azonos, az NCBI GenBank adatbázisából letöltött szekvenciák felhasználásával végzett filogenetikai elemzés alapján, a nemzetségben belül, az izolátumaink által (is) reprezentált kládokon (1–15) felül legalább hét, támogatott ($ML-BS \geq 70$ és/vagy $B-PP \geq 0,90$), egynél több szekvenciával reprezentált („*non-singleton*”) leszármazási vonal (16–22) különböztethető meg. A *Darksidea* nemzetség tenyésztett és tenyészetbe nem vont képviselőinek szekvenciáit („*uncultured sequences*”) egyaránt felsorakoztató filogenetikai fán a szekvenciák többsége a 15 kládot reprezentáló izolátumaink szekvenciáihoz társul. Az izolátumaink által nem reprezentált leszármazási vonalak (16–22) közül a 18-as, 19-es és 21-es kládokat szinte kizárólag a nemzetség tenyésztett, míg a 16-os, 17-es, 20-as és 22-es kládokat szinte kizárólag a nemzetség tenyészetbe nem vont képviselőinek szekvenciái adják. A *Darksidea* nemzetség tenyésztett és tenyészetbe nem vont képviselőinek szekvenciái alapján tehát, az ismert fajokat reprezentáló hét kládon kívül nem csak az izolátumaink által is képviselt nyolc, hanem további hét, akár új fajokat reprezentáló leszármazási vonal is megkülönböztethető.

4.1.2 Csiperketermesztésre szolgáló komposzt endofiton gombái

4.1.2.1 Jellemző növényi alapanyagok endofiton gombái

Csiperketermesztésre szolgáló komposzt jellemző növényi alapanyagainak (búza-, biobúza-, árpa- és repceszalma, valamint napraforgó termésfal) egy-egy mintáját dolgoztuk fel endofiton gombák izolálása céljából (1. táblázat). A felszínsterilizált növényi részekből mindegyik minta esetében növekedésnek indultak gombák (6.A–C ábrák). Összesen 98, búzából 31, biobúzából 22, árpából 25, repceből 15, napraforgóból pedig 5 izolátumra tettünk szert. A biobúza esetében a mintában számottevő mennyiségben előforduló gyomnövényből is izoláltunk gombákat, ezeket azonban nem kezeltük külön a szalmából izolált gombáktól.



6. ábra. Szalma- és komposztminták felszínsterilitált részeiből növekedésnek indult micéliumok. Minták: biobúza kalásztengely (A), repceszár (B), napraforgó terméscsák (C), bunkertöltés (D, E), első átrakás (F), áttárolás (G) és kitárolás (H, I). Fotók: Berek-Nagy Péter János.

Az izolátumok eredetét, azonosításuk eredményét a 2. táblázat foglalja össze az alábbiak szerint.

Az izolátumok döntő többsége, 88%-a az Ascomycota, míg 11%-a a Mucoromycota, 1%-a pedig a Basidiomycota törzsbe tartozik. Az izolátumok között növényi alapanyagokként (búza, biobúza, árpa, repce és napraforgó) is az aszkuszos gombák (tömlősgombák) dominálnak. A búzából származó izolátumok 97%-a, a biobúzából származók 68%-a, az árpából származók 92%-a, a repceből származók 93%-a, míg a napraforgóból származó izolátumok 80%-a tartozik az Ascomycota törzsbe (2. táblázat).

A tömlősgomba izolátumok többsége, 64%-a a Dothideomycetes, 30%-a a Sordariomycetes, a maradéka pedig az Eurotiomycetes, Leotiomycetes és Saccharomycetes osztályokba tartozik.

A Dothideomycetes osztályon belül, ahová tehát a tömlősgomba izolátumok többsége tartozik, egyedül a Pleosporales rend képviselőit, szinte kizárólag *Alternaria* izolátumokat azonosítottunk. Ezzel szemben, a Sordariomycetes osztályon belül, ahová feleannyi izolátum tartozik, számos rend (Hypocreales, Xylariales, Sordariales és Glomerellales) képviselőit azonosítottuk. A reprezentált rendek közül a Hypocreales dominál, ahová az osztályba tartozó izolátumok 54%-a, elsősorban *Fusarium* izolátumok tartoznak. Említésre méltó a Xylariales rend az osztályt képviselő izolátumok 23%-ával, igaz, ezen izolátumok mindegyikét egyetlen növényi alapanyagból, a búzából izoláltuk.

A tömlősgomba izolátumok körében nem csak összességében, hanem növényi alapanyagokként is jellemzően a Pleosporales rend képviselői dominálnak, mivel a búzából, árpából és repceből származó tömlősgomba izolátumok rendre 60, 78 és 71%-a ebbe a rendbe tartozik. Hasonlóan, a Sordariomycetes osztályba tartozó izolátumok körében sem csak összességében, hanem legalább egyes növényi alapanyagok esetében is egyértelműen a

Hypocreales rend képviselői dominálnak, a biobúzából és árpából származó, az osztályba tartozó izolátumok rendre 86 és 60%-a ugyanis ebből a rendből kerül ki (2. táblázat).

A Mucoromycota törzsbe tartozó izolátumok a Mucorales rend főleg *Lichtheimia* és *Rhizopus* nemzetségeit képviselik, zömmel biobúzából és a mintában egyaránt jelenlévő gyomnövényből lettek izolálva (2. táblázat).

A Basidiomycota törzsbe tartozó, árpából származó egyetlen izolátum a Tremellales rend *Vishniacozyma* nemzetségét képviseli (2. táblázat).

4.1.2.2 Komposztgyártás során azonosított endofiton gombák

Mivel a csiperketermesztésre szolgáló komposzt jellemző növényi alapanyagaiból sikerült endofiton gombákat izolálnunk, hat komposztgyártási sort nyomon követve, a komposztgyártás különböző lépéseit reprezentáló 49 mintát dolgoztunk fel hasonlóképpen. A feldolgozott minták magukban foglalják a technológiai vízben ázott növényi alapanyagokat, a komposztgyártás során hozzáadott szalmás csirke- és lótrágyát, illetve a különböző első, második és harmadik fázisú komposztmintákat (1. táblázat). A mintákból származó izolátumok eredetét, azonosításuk eredményét a 3. és F.4. táblázatok foglalják össze az alábbiak szerint.

A technológiai vízben ázott növényi alapanyagok közül három gyártási sorból származó hét mintát dolgoztunk fel, három ázott búza-, három ázott árpa- és két ázott repcemintát (1. táblázat). A felszínsterilizált növényi részekből szinte az összes minta esetében növekedésnek indultak gombák, összesen 31, elsősorban búzából származó izolátumra tettünk szert.

A jellemző nyers növényi alapanyagokból (búza, biobúza, árpa, repce és napraforgó) származó izolátumokhoz hasonlóan, az ázott növényi alapanyagokból származó 31 izolátum döntő többsége, 84%-a az Ascomycota, míg 10%-a a Basidiomycota, 6%-a pedig a Mucoromycota törzsbe tartozik. A tömlősgomba izolátumok többsége, 58%-a azonban nem a Dothideomycetes, hanem a Sordariomycetes, 35%-a pedig az Eurotiomycetes osztályokba tartozik. A Sordariomycetes osztályon belül kizárólag a Hypocreales rend képviselőit, számos *Fusarium*, illetve a jellemző nyers növényi alapanyagokra még kevésbé jellemző *Trichoderma* izolátumot azonosítottunk. Az ázott növényi alapanyagokból származó izolátumok esetében erősebben reprezentált Eurotiomycetes osztályon, illetve Eurotiales renden belül az *Aspergillus* mellett a *Penicillium* nemzetség képviselőit is azonosítottuk (3. táblázat).

2. táblázat. Csiperketermesztésre szolgáló komposzt jellemző növényi alapanyagaiból izolált endofiton gombák.

izolátumok rendszertani besorolása				izolátumok száma növényi alapanyagonként				
törzs	osztály	rend	nemzetség	búzaszalma	biobúza-szalma	árpaszalma	repceszalma	napraforgó termésfal
Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	<i>Alternaria</i>	18	6	15	10	2
			<i>Pyrenophora</i>	-	1	3	-	-
	Eurotiomycetes	Eurotiales	<i>Aspergillus</i>	-	1	-	1	1
	Leotiomycetes	Helotiales	<i>Sclerotinia</i>	-	-	-	1	-
	Saccharomycetes	Saccharomycetales	<i>Meyerozyma</i>	-	-	-	-	1
	Sordariomycetes	Glomerellales	<i>Gibellulopsis</i>	-	1	-	-	-
			<i>Plectosphaerella</i>	-	-	-	1	-
		Hypocreales	<i>Fusarium</i>	2	5	3	1	-
			<i>Sarocladium</i>	-	1	-	-	-
			<i>Trichoderma</i>	2	-	-	-	-
		Sordariales	<i>Chaetomium</i> s.l.	1	-	-	-	-
			<i>Gelasinospora</i>	-	-	1	-	-
			<i>Sordaria</i>	1	-	1	-	-
		Xylariales	<i>Arthrinium</i>	1	-	-	-	-
			<i>Biscogniauxia</i>	1	-	-	-	-
			<i>Hypoxylon</i>	1	-	-	-	-
			<i>Nigrospora</i>	3	-	-	-	-
Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	<i>Vishniacozyma</i>	-	-	1	-	-
Mucoromycota	Mucoromycetes	Mucorales	<i>Lichtheimia</i>	-	4	1	-	-
			<i>Mucor</i>	-	1	-	-	-
			<i>Rhizopus</i>	1	2	-	1	1

Az ázott növényi alapanyagokból származó izolátumok körében nem csak összességében, hanem mintánként is jellemző az Ascomycota törzs, azon belül pedig a Hypocreales (Sordariomycetes) vagy Eurotiales (Eurotiomycetes) rendek dominanciája (F.4. táblázat).

A komposztgyártás során hozzáadott szalmás csirke- és lótrágya öt gyártási sorból származó nyolc mintáját dolgoztuk fel (1. táblázat), endofiton gombák izolálása céljából csak a bennük lévő szalmát felhasználva. Lótrágyából 28, míg csirketrágyából egy izolátumra tettünk szert.

A lótrágyából származó izolátumok 68%-a az Ascomycota törzsbe, míg azok 53%-a a Sordariomycetes osztályba tartozik. Az Ascomycota törzset, illetve a Sordariomycetes osztályt képviselő izolátumok azonban korántsem dominálnak minden egyes mintában. A harmadik és hatodik gyártási sorok esetében az Ascomycota és Mucoromycota törzsek képviselőinek száma megegyezik, az első gyártási sor esetében pedig nem is azonosítottunk a Sordariomycetes osztályba tartozó, lótrágya eredetű izolátumot.

A tömlősgomba izolátumok eloszlása a reprezentált rendek között egyenletes, kiemelkedő rendet vagy nemzetséget nem azonosítottunk.

A Mucoromycota törzset az izolátumok, a nyers és ázott növényi alapanyagok esetében megszokottnál nagyobb hányada, 32%-a képviseli, míg a Basidiomycota törzs egyetlen képviselőjét sem azonosítottuk (3. táblázat).

A növényi alapanyagokon és a trágyamintákon túl különböző első, második és harmadik fázisú komposztmintákat is feldolgoztunk endofiton gombák izolálása céljából (1. táblázat). A 33 feldolgozott komposztmintából 23 (70%) esetében a – felszínsterilizálva, steril csapvízzel mosva vagy közvetlenül – táptalajra helyezett növényi részekből növekedésnek indultak gombák (6.D–I ábrák), összesen 138 izolátumra tettünk szert.

Az izolátumok száma a gyártási sorok és a gyártás különböző lépéseit reprezentáló komposztminták függvényében az alábbiak szerint alakult. Gyártási soronként 15, 17, 30, 27, 31 és 18 izolátumra tettünk szert. A különböző gyártási sorokból származó izolátumokat összesítve a bunkertöltésből 55, az első átrakásból 30, a második átrakásból 12, a kiszedésből szintén 12, az áttárolásból 18, míg a kitérésből 11 izolátumra tettünk szert. Az izolátumok száma a komposztgyártás előrehaladtával, a gyenge felszínsterilizálás vagy annak elhagyása ellenére, a bunkertöltéstől a második átrakásig vagy a kiszedésig csökkent, míg onnantól jellemzően az áttárolásig nőtt.

3. táblázat. Csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállítás során mintatípusonként izolált endofiton gombák.

izolátumok rendszertani besorolása				izolátumok száma mintatípusonként ^a										
törzs	osztály	rend	nemzetség	ázott növényi alap- anyagok típusai			trágyaminták típusai		komposztminták típusai					
				áb	áÁ	áR	CsT	LT	BT	ÁR1	ÁR2	KSz	ÁT	KT
Ascomycota	Dothideo- mycetes	Capnodiales	<i>Cladosporium</i>	-	-	-	-	-	-	3	1	1	-	-
		Dothideales	<i>Aureobasidium</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
		Pleosporales	<i>Alternaria</i>	1	1	-	-	2	-	1	-	-	1	-
			<i>Epicoccum</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
		Venturiales	<i>Ochroconis</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	Eurotiomycetes	Eurotiales	<i>Aspergillus</i>	3	1	-	1	3	25	9	4	3	1	1
			<i>Penicillium/Talaromyces</i>	2	2	1	-	1	8	1	2	1	-	9
	Saccharomycetes	Saccharomycetales	<i>Galactomyces</i>	-	-	-	-	2	-	1	-	1	-	-
	Sordariomycetes	Hypocreales	<i>Fusarium</i>	5	1	-	-	4	2	3	1	-	-	-
			<i>Trichoderma</i>	3	2	4	-	1	4	-	-	-	-	-
		Microascales	<i>Scopulariopsis</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
		Sordariales	<i>Chaetomium s.l.</i>	-	-	-	-	2	3	1	-	-	-	-
			<i>Corynascus</i>	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-
			<i>Mycothermus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	6	16	1
			<i>Triangularia</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
		Xylariales	<i>Nigrospora</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	<i>Hormographiella</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Atheliales	<i>Athelia</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		Polyporales	<i>Phanerochaete</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucoromycota	Mucoromycetes	Mucorales	<i>Lichtheimia</i>	2	-	-	-	3	9	2	2	-	-	-
			<i>Mucor</i>	-	-	-	-	2	3	6	-	-	-	-
			<i>Rhizomucor</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
			<i>Rhizopus</i>	-	-	-	-	4	-	1	-	-	-	-

^a A nyomon követett hat gyártási sorból származó izolátumok mintatípusonként összesített száma.

Mintatípusok: ázott búzaszalma (áb), ázott árpaszalma (áÁ), ázott repceszalma (áR), (szalmás) csirketrágya (CsT), (szalmás) lótrágya (LT), bunkertöltés (BT), első átrakás (ÁR1), második átrakás (ÁR2), kiszedés (KSz), áttárolás (ÁT) és kitérés (KT).

A technológiai vízben ázott növényi alapanyagokból származó izolátumok kék, míg az első, második és harmadik fázisú komposztmintákból származó izolátumok rendre zöld, piros és sárga háttérszínnel vannak jelölve.

A komposztmintákból származó izolátumok döntő többsége, 83%-a az Ascomycota, 17%-a pedig a Mucoromycota törzsbe tartozik (3. táblázat). A csiperkével átszövetett komposztminták (kitárolás) többségéből a táptalajon növekedésnek indult a Basidiomycota törzsbe tartozó *Agaricus bisporus*, ezt azonban nem vettük számításba az eredmények összesítésekor. A tömlősgomba izolátumok nem csak összességében, hanem az egyes gyártási sorokból és a gyártás egyes lépéseit reprezentáló komposztmintákból származó izolátumok körében is dominálnak. Az első gyártási sorból származó izolátumok 73%-a, a másodikból származók 100%-a, a harmadikból származók 90%-a, a negyedikből származók 82%-a, az ötödikből származók 71%-a, míg a hatodik gyártási sorból származó izolátumok 83%-a tömlősgomba (F.4. táblázat). Hasonlóan, a bunkertöltésből származó izolátumok 78%-a, az első átrakásból származók 70%-a, a második átrakásból származók 75%-a, míg a kiszedésből, áttárolásból és kitárolásból származó izolátumok 100%-a képviseli az Ascomycota törzset (3. táblázat). Ráadásul, az egyes mintákból származó izolátumok körében is jellemzően a tömlősgombák dominálnak. Említésre méltó kivétel az ötödik gyártási sor első átrakása, mely esetében az izolátumok 64%-a a Mucoromycota törzset képviseli (F.4. táblázat).

A komposztmintákból származó tömlősgomba izolátumok többsége, 56%-a az Eurotiomycetes, 34%-a a Sordariomycetes, a maradéka pedig a Dothideomycetes és Saccharomycetes osztályokba tartozik. Mivel az Eurotiomycetes osztályt képviselő, zömmel *Aspergillus* izolátumok egytől egyig az Eurotiales rendbe tartoznak, a komposztmintákból származó izolátumok körében ez a leginkább reprezentált rend. A Sordariales rend, ahová a tömlősgomba izolátumok 25%-a, a Sordariomycetes osztályt képviselő, zömmel *Mycotermus* izolátumok 72%-a tartozik, szintén számottevő mértékben képviselteti magát. A komposztgyártás előrehaladtával azonban, a különböző fázisú komposztmintákból származó izolátumok körében más-más osztályok, rendek, illetve nemzetségek a leginkább reprezentáltak (3. táblázat).

Az első fázisú komposztmintákból (bunkertöltéstől a kiszedésig) származó izolátumok körében összességében az Eurotiales rend dominál, ahová az összes izolátum 49%-a, a tömlősgomba izolátumok 62%-a tartozik. A döntően *Aspergillus* izolátumok képviselte Eurotiales rend (Eurotiomycetes) mellett a zömmel *Lichtheimia* és *Mucor* izolátumok képviselte Mucorales (Mucoromycetes), a *Fusarium* és *Trichoderma* izolátumok képviselte Hypocreales (Sordariomycetes), valamint a zömmel *Chaetomium* és *Mycotermus*

izolátumok képviselte Sordariales (Sordariomycetes) rendek is kiemelendők. Míg az Eurotiales, Hypocreales és Mucorales rendek bunkertöltésben (és az első átrakásban) gyakori képviselőinek száma az első fázis előrehaladtával csökkent, addig a Sordariales rend az első fázis kezdetén (bunkertöltés) a *Chaetomium*, a végén (kiszedés) pedig a *Mycothermus* izolátumok révén egyaránt képviseltette magát. A Capnodiales rendbe (Dothideomycetes) tartozó *Cladosporium* nemzetség egynéhány izolátuma az első fázis szinte mindegyik típusú komposztmintájából azonosításra került (3. táblázat).

A második fázisú, hőkezelt komposztmintákból (áttárolás) származó izolátumok körében összességében a Sordariales rend dominál, ahová az összes izolátum 89%-át adó *Mycothermus* izolátumok tartoznak (3. táblázat). A feldolgozott minták többségénél a táptalajra helyezett növényi részek mindegyikéből növekedésnek indultak a *Mycothermus* izolátumokéval megegyező kinézetű tenyészetek (6.G ábra) abban az esetben, ha a növényi részeket egyáltalán nem, vagy csak a leggyengébb módszerrel – 15 másodpercig 70%-os etil-alkoholban majd néhány percig steril csapvízben inkubálva – felszínsterilizáltuk. Következésképpen, a *Mycothermus* izolátumok száma jóval magasabb lenne, ha az összes növekedésnek indult tenyészetet izoláltuk volna. Két minta, az első és hatodik gyártási sor áttárolása esetén *Mycothermus* tenyészetek nem indultak növekedésnek egyetlen táptalajra helyezett növényi részből sem. A komposztgyártás folyamatának többszöri nyomon követése során izolált 23 *Mycothermus* izolátum mindegyikét a *M. thermophilus* faj képviselőjeként azonosítottuk.

A harmadik fázisú, csiperkével átszövetett komposztmintákból (kitárolás) az eredmények összesítésekor számításba nem vett, a táptalajra helyezett növényi részek többségéből növekedésnek indult *Agaricus bisporus* tenyészeteken (6.H ábra) kívül zömmel *Penicillium* (Eurotiales, Eurotiomycetes) izolátumokra tettünk szert (6.I ábra, 3. táblázat). Ezek azonban egyetlen mintából, a hatodik gyártási sor kitárolásából származnak, mely minta táptalajra helyezett növényi részeiből *Agaricus bisporus* tenyészetek egyébként egyáltalán nem indultak növekedésnek (F.4. táblázat).

Az egyes rendek és nemzetségek összességében (3. táblázat), valamint az egyes gyártási sorok esetében (F.4. táblázat) nagyrészt hasonló mértékben reprezentáltatták magukat.

4.1.3 Gyógynövények endofiton gombái

A munkáim során vizsgált mindhárom gyógynövény (festő buzér, tövises iglice és tarackbúza) felszínsterilizált, gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből növekedésnek indult gombák (7. ábra).



7. ábra. Festő buzér (A, B), tövises iglice (C) és tarackbúza (D) felszínsterilizált, gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből növekedésnek indult micéliumok. Fotók: Berek-Nagy Péter János.

4.1.3.1 Festő buzér endofiton gombái

A festő buzér megvastagodott gyökereiből összesen 21 izolátumra tettünk szert, melyek mindegyike az Ascomycota törzsbe tartozik. Többségük, 52%-uk a Leotiomyces, 38%-uk a Sordariomyces, 10%-uk pedig a Dothideomyces osztályt képviseli. Ezen osztályokon belül egy-egy rend reprezentálja magát, a Helotiales rend a *Cadophora* és *Leptodophora*, a Hypocreales rend elsősorban a *Fusarium*, a Pleosporales rend pedig az *Acrocalymma* izolátumok révén (4. táblázat).

4. táblázat. Festő buzér (*Rubia tinctorum*) gyökeréből izolált endofiton gombák.

törzs	osztály	rend	nemzetség	izolátumok száma
Ascomycota	Dothideomyces	Pleosporales	<i>Acrocalymma</i>	2
	Leotiomyces	Helotiales	<i>Cadophora</i>	5
			<i>Leptodophora</i>	6
			<i>Dactylonectria</i>	2
	Sordariomyces	Hypocreales	<i>Fusarium</i>	6

4.1.3.2 Tövises iglice endofiton gombái

A tövises iglice egyedek megvastagodott főgyökereiből 22, kizárólag az Ascomycota törzsbe tartozó izolátumra tettünk szert. Döntő többségük, 73%-uk a Leotiomyces, a maradék 27%-uk pedig a Sordariomyces, Dothideomyces és Eurotiomyces osztályokat képviseli. Az egyes osztályokon belül egy-egy rend reprezentálja magát, a Helotiales rend például az összes izolátum 64%-át adó *Cadophora* és *Leptodophora* izolátumok révén (5. táblázat).

5. táblázat. Tövises iglice (*Ononis spinosa*) főgyökeréből izolált endofiton gombák.

törzs	osztály	rend	nemzetség	izolátumok száma
Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	<i>Acrocalymma</i>	1
			<i>Fouskomenomyces</i>	1
	Eurotiomycetes	Eurotiales	<i>Penicillium</i>	1
	Leotiomycetes	Helotiales	<i>Cadophora</i>	9
			<i>Lachnum</i>	2
			<i>Leptodophora</i>	5
	Sordariomycetes	Hypocreales	<i>Fusarium</i>	3

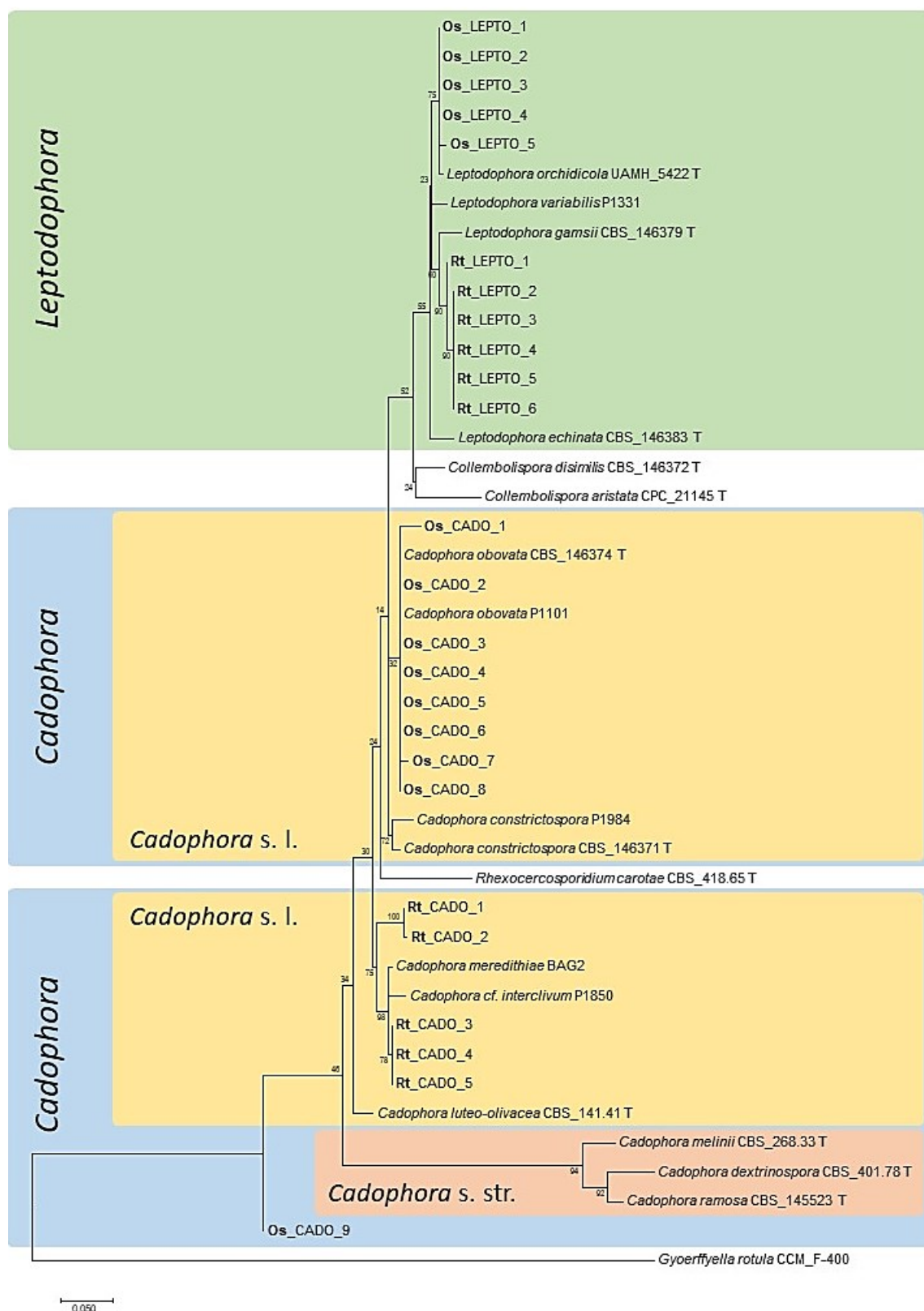
A festő buzér és tövises iglice föld alatti szerveiből származó, a filogenetikai elemzés alapján a *Cadophora* és *Leptodophora* nemzetségekbe tartozó összesen 25 izolátum rokonsági viszonyait a 8. ábrán látható filogenetikai fa szemlélteti. A *Cadophora* nemzetségen belül nyolc tövises iglice eredetű izolátum a *C. obovata*, három festő buzér eredetű pedig a *C. meredithiae* fajokhoz áll közel. A *Leptodophora* nemzetségen belül hat festő buzér eredetű izolátum a *L. gamsii*, öt tövises iglice eredetű pedig a *L. orchidicola* fajokhoz áll közel.

4.1.3.3 Tarackbúza endofiton gombái

A tarackbúza egyedek gyöktörzséből összesen 31 izolátumra tettünk szert. Ezek túlnyomó többsége, 94%-a az Ascomycota, míg 6%-a a Basidiomycota törzsbe tartozik. Előbbiek döntő többségét, 79%-át a Sordariomycetes, míg 21%-át a Dothideomycetes osztály képviselői adják. Míg a Dothideomycetes osztályba tartozó izolátumok körében egyedül a Pleosporales rend más-más nemzetségekbe tartozó képviselőit azonosítottuk, addig a Sordariomycetes osztályba tartozó izolátumok körében több rend is reprezentálja magát, a Hypocreales rend azonban kiemelkedő mértékben, az osztályba tartozó izolátumok 70%-át, illetve az összes izolátum közel felét adó *Fusarium* izolátumok révén (6. táblázat).

6. táblázat. Tarackbúza (*Elymus repens*) gyöktörzséből izolált endofiton gombák.

törzs	osztály	rend	nemzetség	izolátumok száma
Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	<i>Acrocalymma</i>	1
			<i>Ophiosphaerella</i>	1
			<i>Phaeosphaeria</i>	1
			<i>Setophoma</i>	2
			<i>Torula</i>	1
	Sordariomycetes	Diaporthales	<i>Diaporthe/Phomopsis</i>	2
		Glomerellales	<i>Plectosphaerella</i>	2
		Hypocreales	<i>Fusarium</i>	13
			<i>Achroiostachys</i>	3
		Xylariales	<i>Microdochium</i>	3
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	<i>Coprinopsis</i>	2



8. ábra. A festő buzér (*Rubia tinctorum*) és tövises iglice (*Ononis spinosa*) gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből származó *Cadophora* és *Leptodophora* izolátumok azonosításához készített filogenetikai fa. Részletek a következő oldalon.

8. ábra folytatása. A *Cadophora* és *Leptodophora* izolátumaink általunk meghatározott, továbbá a *Cadophora*, *Leptodophora* és a velük közeli rokonságban álló nemzetségek reprezentatív, az NCBI GenBank adatbázisból letöltött ITS szekvenciái alapján készült maximum likelihood (ML) filogenetikai fa. Az ML elemzés során kapott bootstrap értékek az elágazásoknál láthatók. A *Rubia tinctorum* eredetű *Cadophora* és *Leptodophora* izolátumok Rt_CADO_1–5 és Rt_LEPTO_1–6, míg az *Ononis spinosa* eredetűek Os_CADO_1–9 és Os_LEPTO_1–5 kódokon szerepelnek. A félkövér „T” betűvel megjelölt törzsek típus-törzsek. A *Leptodophora* nemzetség képviselői zöld, a *Cadophora* nemzetségé kék, míg a *Cadophora* sensu lato (s. l.) és a *Cadophora* sensu stricto (s. str.) kládok képviselői rendre sárga és piros háttérszínnel vannak jelölve. Kulcsoportként a *Gyoeffyaella rotula* CCM F-400 törzs szolgált. Mércse: várható változás/pozíció/ág.

Az alábbiakban azonosított egyes anyagcseretermékek forrásának bizonyult, mindhárom gyógynövényből előkerült *Acrocalymma* izolátumokat az *A. vagum*, míg a tarackbúzából származó *Setophoma* izolátumokat a *S. terrestris* képviselőiként azonosítottuk.

A munkáink keretében vizsgált, saját vagy rendelkezésünkre bocsátott izolátumok mellett, lehetőség szerint, azonosítottuk az alábbiakban bemutatott anyagcseretermékek ismert, ugyanakkor mindössze törzs vagy rend szintjén azonosított forrásait.

A Pleosporales rend képviselőjeként számon tartott CRI247-01 izolátumot (Kasettrathat és mtsai 2008), nyilvános ITS szekvenciáját a *F. fulophazii* izolátumokkal kapcsolatos filogenetikai elemzéshez felhasználva, a *Periconia echinoclaoe* faj (*Periconiaceae*, Pleosporales) képviselőjeként azonosítottuk (3. ábra).

A tömlősgombaként számon tartott IBWF 77-89A izolátum (Opatz és mtsai 2008) a *Nigrograna* nemzetséghez (*Nigrogranaceae*, Pleosporales) áll a legközelebb, nyilvános ITS szekvenciája 96,61%-os egyezést mutat egyes, a nemzetséget reprezentáló szekvenciákkal (*query cover*: 100%). A Pleosporales sp. F46 izolátum (Yang és mtsai 2021) egyértelműen a *Nigrograna* nemzetség képviselője, nyilvános ITS szekvenciája 98,18%-ban azonos egyes, a nemzetséget reprezentáló szekvenciákkal (*query cover*: 100%) (16. táblázat).

4.2 Endofiton gombák morfológiai vizsgálata

A *Darksidea* nemzetség új leszármazási vonalait, azaz a 2-es, 3-as, 4-es, 8-as, 14-es és 15-ös kládokat reprezentáló izolátumok makro- és mikromorfológiai jellemzőit határoztuk meg. Az izolátumok morfológiája az egyes leszármazási vonalakon belül is kifejezetten változatosnak bizonyult. Sőt, nem csak az izolátumok, hanem azok MEA és PDA táptalajon nevelt tenyészetek is markánsan különböztek egymástól. A jellemzően néhány cm átmérőjű, gyér légmicéliummal rendelkező tenyészetek színe a fehértől a sötétszürkéig terjedt, esetenként eltérő színű marginális zónával. A tenyészetek felszínén a kiválasztott anyagok (exudátumok) cseppeket formáltak, a táptalaj is gyakran elszíneződött

(F.1. ábra). A szeptált, átlátszó (hialin) vagy pigmentált, jellemzően durva felszínű hifák gyakran hurkokat vetettek. A tenyészetek termőtesteket nem képeztek, a tenyészetek elöregedésével párhuzamosan azonban egyre több, ivartalan szaporodást lehetővé tevő, úgynevezett klamidospóra jelent meg rajtuk (F.2., F.3. ábrák). Termőtestek az ivaros szaporodás indukálása céljából alkalmazott táptalajokon (MEA, MMN, OA, PDA, SNA és darált zöldségekkel dúsított vizes agar) és növényi részeken (fenyőtű és csalánszár) hónapok elteltével sem képződtek.

4.3 Endofiton gombák *in planta* vizualizálása

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt növényi alapanyagait kolonizáló gombák *in planta* vizualizálása céljából egy-egy minta búza-, biobúza-, árpa- és repceszalmát dolgoztunk fel (1. táblázat), a növényi részeket (például szár, levél) derítve, a gombákat tintával vagy fluoreszcensen jelölt lektin (Wheat Germ Agglutinin (WGA)-Alexa Fluor 488) oldattal festve. Mindegyik növényi alapanyagban kiterjedt, sűrű kolonizációt figyeltünk meg, különösen a WGA-Alexa Fluor 488 oldattal festett preparátumokban (9. ábra). A tintával festett preparátumokban kékre festődött és barna (melanizált) hifákat egyaránt láttunk. Gyakran tapasztaltuk a hifák sűrűbb előfordulását a gázcsereenyíásokban, illetve azok környékén. A repceszalmában gömbölyded hifatagok láncolatából álló, úgynevezett moniliform hifákat is megfigyeltünk (9. ábra).

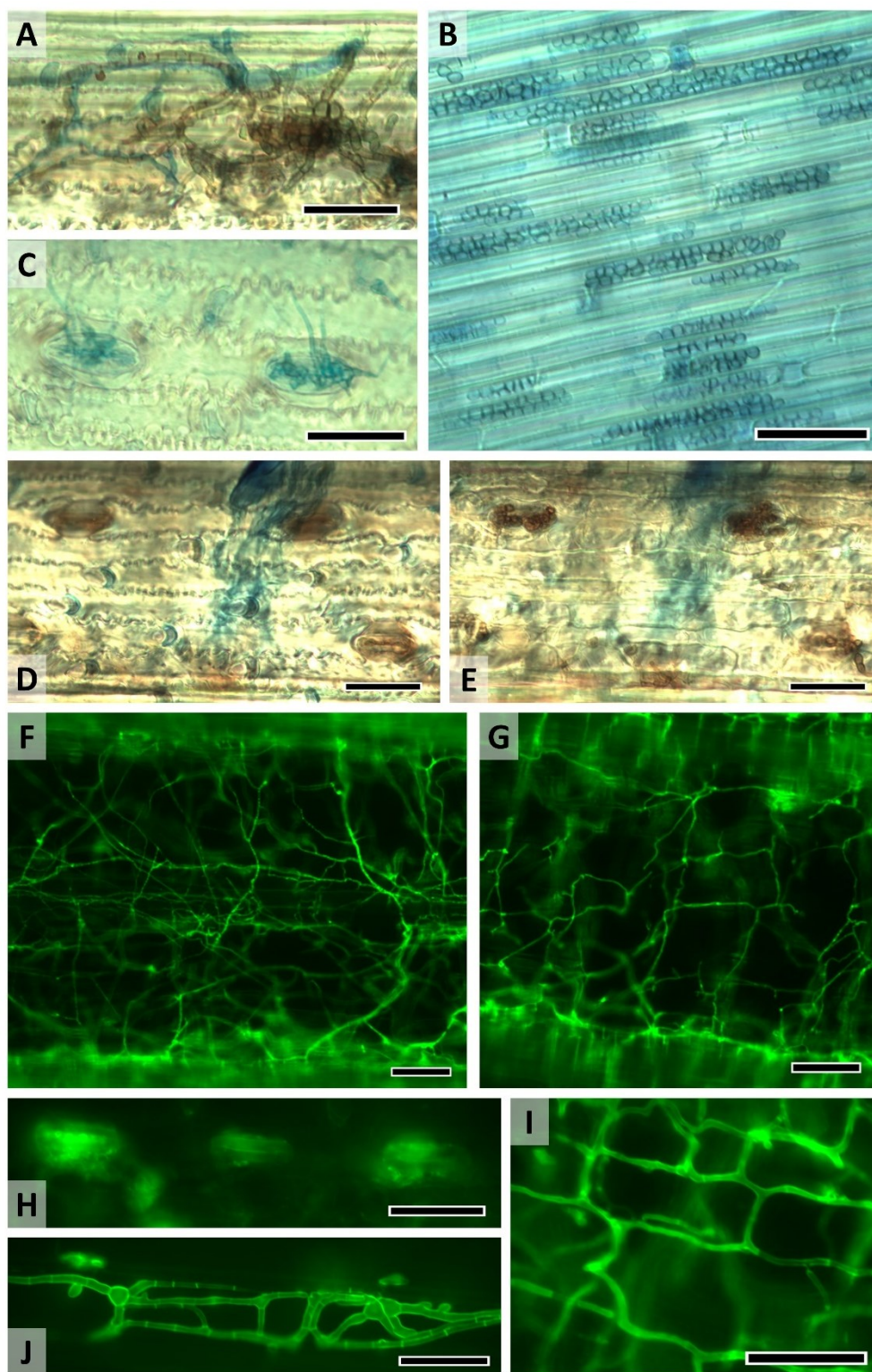
4.4 Endofiton gombák és növényi alapanyagok vegyületei

Az endofiton gombák és növényi alapanyagok másodlagos anyagcseretermékeinek meghatározására a mintákból kivonatokat készítettünk metil-alkohol oldószerrel. A kivonatok összetevőit nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) elválasztást követően UV- és nagyfelbontású tömegspektrometriás detektálással határoztuk meg (HPLC-DAD-HRMS). A preparatív kivonatok fő összetevőit preparatív HPLC technikával izoláltuk, szerkezetüket nagyfelbontású tandem tömegspektrometria (HRMS/MS) és mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópia módszerekkel azonosítottuk.

4.4.1 Sötét szeptált endofiton gombák vegyületei

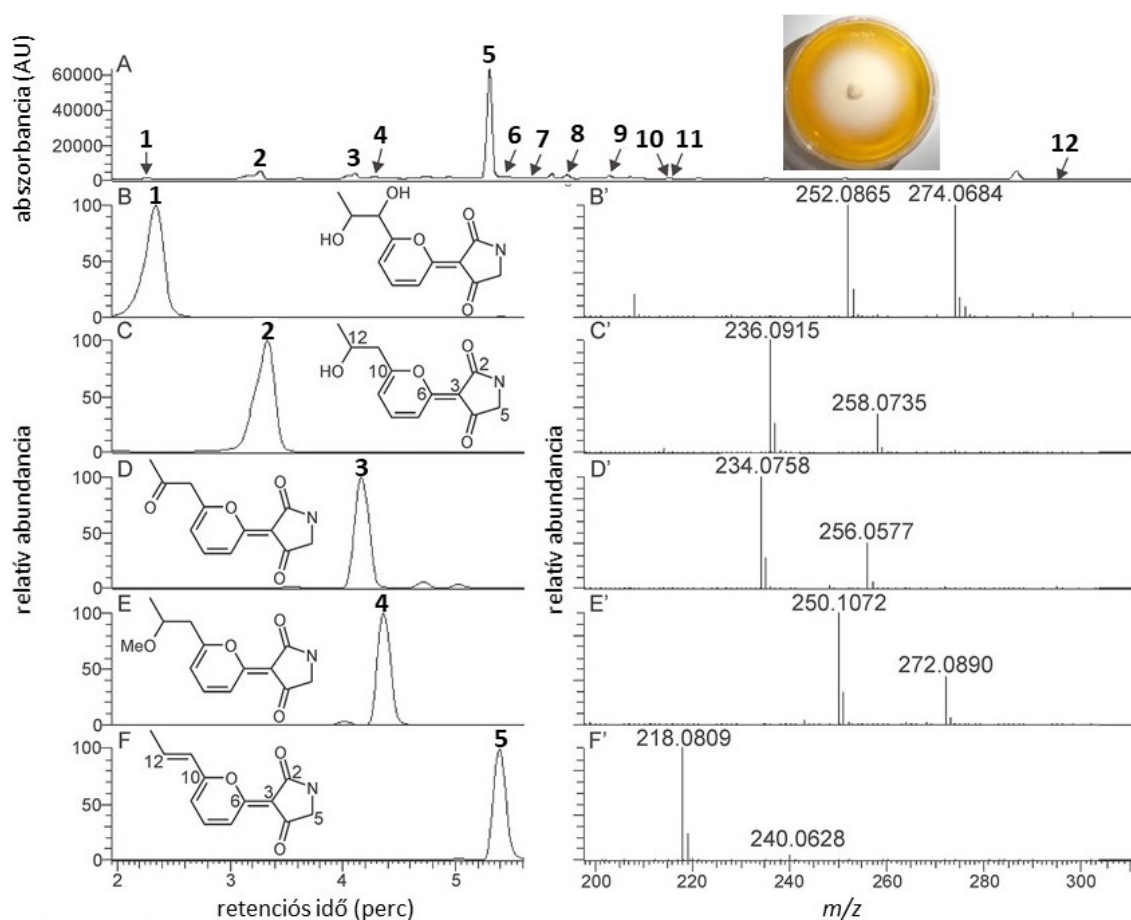
4.4.1.1 *Flavomyces fulophazii* izolátumok vegyületei

A tíz magyarországi (HF-1–HF-10) és hét mongóliai (MF-1–MF-7) *F. fulophazii* izolátum metabolikus összetételének meghatározása során összesen 12 összetevőt (1–12) azonosítottunk (10.A ábra, 7. táblázat).



9. ábra. Endofiton gombák tintával (A–E), illetve fluoreszcensen jelölt lektinnel (F–J) vizualizálva a csi-perketermesztésre szolgáló komposzt növényi alapanyagaiban: búza- (A, D, E, I), biobúza- (C), árpa- (F, G, H, J) és repceszalmában (B). C, D, E, H: gombák tömeges előfordulása növényi gázcserenyílásokban. B, I: növényi szövetek intra- (B) és intercelluláris kolonizációja (I). A D és E felvételek ugyanazon preparátum ugyanazon területéről, de különböző mélységben készültek. Mércék: F, G: 100 μm , egyébként 50 μm . Fotók: Berek-Nagy Péter János.

A kivonatokban egy fő összetevőt (**5**) detektáltunk (10.A ábra), mely 270 és 445 nm-en mutat elnyelési maximumot (F.4.E ábra). Pozitív ionizáció mellett felvett tömegspektrumában a protonált molekula és a nátrium ionnal képzett addukt révén detektálható (10.F, 10.F' ábrák), melyekből a $C_{12}H_{11}O_3N$ összegképlet számítható (7. táblázat). A vegyületet piros, szilárd halmazállapotú anyagként izoláltuk, szerkezetét NMR spektroszkópia módszerrel határoztuk meg. Az UV, MS és NMR adatok alapján **5** a tetrámsav típusú vermelhotin (Hosoe és mtsai 2006). Az NMR adatok alapján azt is megállapítottuk, hogy az izolált anyag az *E*- és *Z*-vermelhotin 4:3 arányú egyensúlyi keveréke (Leyte-Lugo és mtsai 2012).



10. ábra. *Flavomyces fulophazii* tenyészet (fotó) metil-alkohol oldószerrel készített kivonatának az azonosított összetevők (**1–12**) (7. táblázat) nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás elválasztását bemutató HPLC-UV kromatogram ($\lambda=280$ nm) (A), valamint a kivonat tetrámsav típusú összetevőinek (dihidroxi-vermelhotin (**1**), hidroxivermelhotin (**2**), oxo-vermelhotin (**3**), metoxi-vermelhotin (**4**), vermelhotin (**5**)) protonált molekuláira szelektív (m/z 252,1 (B), m/z 236,1 (C), m/z 234,1 (D), m/z 250,1 (E), m/z 218,1 (F)) HPLC-MS kromatogramok ezen összetevők szerkezeti képleteivel (B–F) és HR-MS spektrumaival (pozitív ionizáció) (B'–F'). Berek-Nagy és mtsai (2021) 2. ábra módosítva. Fotó: Berek-Nagy Péter János.

A tenyészetek kivonataiban detektáltunk négy, a vermelhotin molekulájához hasonló UV spektrumú összetevőt (**1–4**), melyek 290 és 410 nm körül mutatnak elnyelési maximumot (F.4.A–D ábra). HR-MS spektrumaikban a protonált molekulák és a nátrium ionnal képzett adduktok révén detektálhatók (10.B–E, 10.B'–E' ábrák, 7. táblázat). Tandem tömegspektrumaikban a domináns fragmentumok egy része azonos (m/z 192 és m/z 165), illetve a vermelhotin tandem tömegspektrumában jelentkező ionok (m/z 218 és m/z 191) is megtalálhatók bennük (F.5. ábra, F.5. táblázat). Ezek alapján feltételezhető, hogy e négy összetevő a vermelhotin származékai.

Az MS adatokból a **2** összetevőre a $C_{12}H_{13}O_4N$, míg a **4** összetevőre a $C_{13}H_{15}O_4N$ összegképlet számítható (7. táblázat). Összehasonlítva ezeket a vermelhotin összegképletével ($C_{12}H_{11}O_3N$), **2** és **4** a vermelhotin vízzel (H_2O), illetve metil-alkohollal (CH_3OH) képzett származékainak is tekinthetők. Tandem tömegspektrumaikban fragmentumként meg is jelenik a protonált vermelhotin molekulának megfelelő ion (m/z 218), mely **2** és **4** protonált molekuláiból víz, illetve metil-alkohol kilépésével keletkezhet (F.5. ábra, F.5. táblázat). Ezen MS adatok alapján **2** és **4** a vermelhotin új, természetes származékai, melyeknek a hidroxivermelhotin (**2**) és metoxivermelhotin (**4**) neveket adtuk. Tandem tömegspektrumaik egy további közös fragmentum ionja (m/z 192) alapján, mely a protonált hidroxivermelhotin esetében a hidroxil-, míg a metoxivermelhotin esetében a metoxilcsoportot hordozó C-12–C-13 etilcsoport kilépésével keletkezhet, a hidroxil- és metoxilcsoport molekulán belüli pozícióját (C-12) is megállapítottuk (10.C, 10.E, F.5. ábrák, F.5. táblázat). A hidroxivermelhotin vegyületet piros, szilárd halmazállapotú anyagként izoláltuk, szerkezetét NMR spektroszkópia módszerrel is bizonyítottuk. Az NMR adatok alapján azt is megállapítottuk, hogy az izolált anyag az *E*- és *Z*-hidroxivermelhotin 4:3 arányú egyensúlyi keveréke.

Az **1** összetevőre az MS adatokból a vermelhotin összegképletéhez ($C_{12}H_{11}O_3N$) képest két hidrogén- és két oxigénatommal többlet tartalmazó $C_{12}H_{13}O_5N$, míg a **3** összetevőre az egy oxigénatommal többlet tartalmazó $C_{12}H_{11}O_4N$ összegképlet számítható (7. táblázat). A tandem tömegspektrumaikban jelentkező m/z 192 fragmentum ion **1** esetében a protonált molekula hidroxilcsoportot hordozó C-12–C-13 etilcsoportjának, valamint egy további hidroxilcsoportjának, **3** esetében pedig a protonált molekula oxocsoportot hordozó C-12–C-13 etilcsoportjának kilépésével keletkezhet (10.B, 10.D, F.5. ábrák, F.5. táblázat). Ezen MS adatok alapján **1** és **3** is a vermelhotin új, természetes származékai, melyeknek a dihidroxivermelhotin (**1**) és oxovermelhotin (**3**) neveket adtuk.

7. táblázat. A *Flavomyces fulophazii* izolátumok tenyészeiben azonosított vegyületek (**1–12**) nagyfelbontású tömegspektrometriás (HRMS) adatai. Berek-Nagy és mtsai (2021) 2. táblázat módosítva.

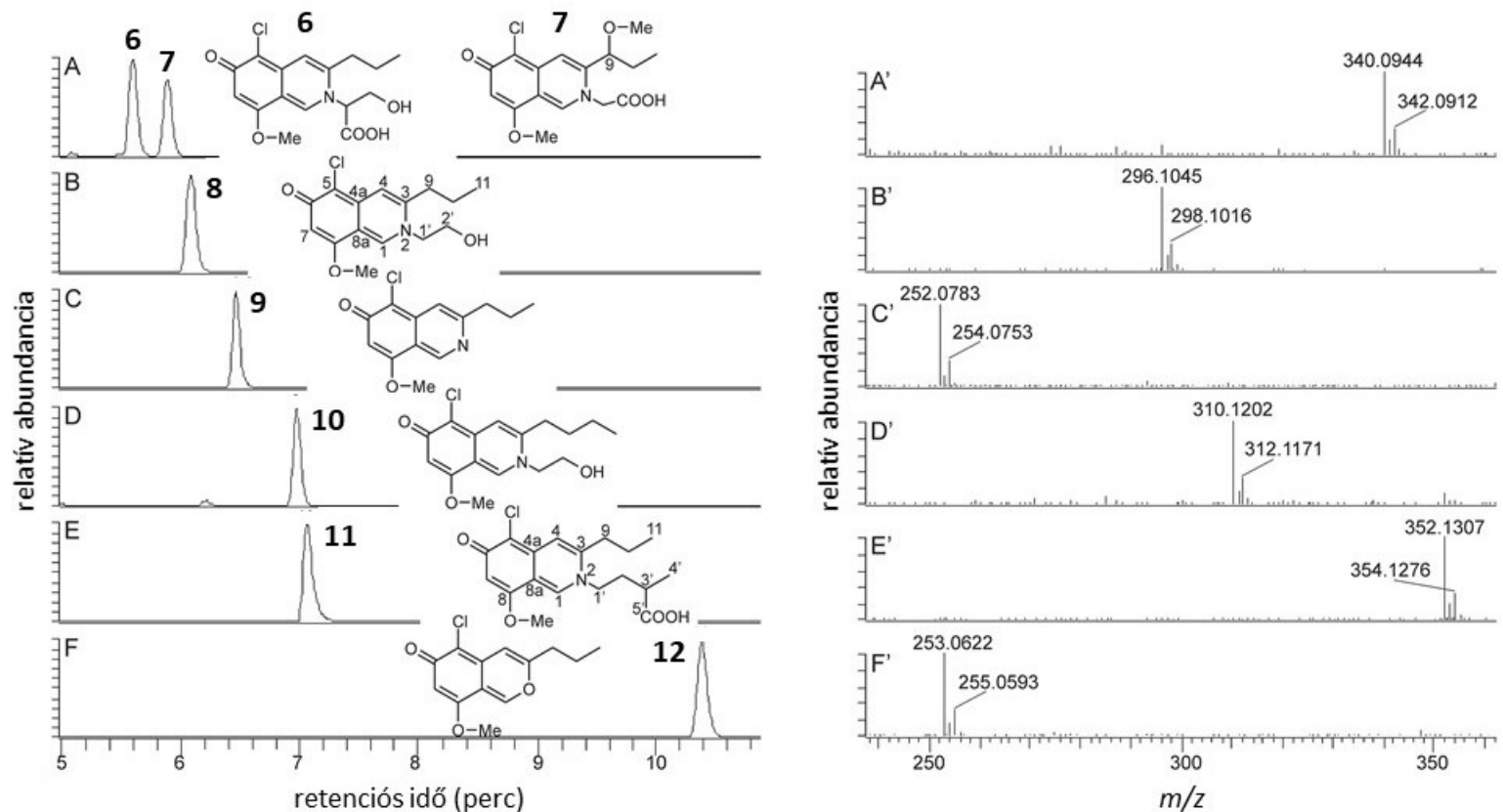
vegyület sorszáma	vegyület neve	vegyület összegképlete	detektált ion	detektált ion összegképlete	detektált m/z	számított m/z	eltérés (ppm)
1	10,11-dihidroxi-vermelhotin	$C_{12}H_{13}O_5N$	$[M+H]^+$	$C_{12}H_{14}O_5N$	252,0865	252,0866	−0,472
			$[M+Na]^+$	$C_{12}H_{13}O_5NNa$	274,0684	274,0686	−0,853
2	11-hidroxi-vermelhotin	$C_{12}H_{13}O_4N$	$[M+H]^+$	$C_{12}H_{14}O_4N$	236,0915	236,0917	−0,908
			$[M+Na]^+$	$C_{12}H_{13}O_4NNa$	258,0735	258,0737	−0,500
3	11-oxo-vermelhotin	$C_{12}H_{11}O_4N$	$[M+H]^+$	$C_{12}H_{12}O_4N$	234,0758	234,0761	−1,129
			$[M+Na]^+$	$C_{12}H_{11}O_4NNa$	256,0577	256,0580	−1,363
4	11-metoxi-vermelhotin	$C_{13}H_{15}O_4N$	$[M+H]^+$	$C_{13}H_{16}O_4N$	250,1072	250,1074	−0,698
			$[M+Na]^+$	$C_{13}H_{15}O_4NNa$	272,0890	272,0893	−1,136
5	vermelhotin	$C_{12}H_{11}O_3N$	$[M+H]^+$	$C_{12}H_{12}O_3N$	218,0809	218,0812	−1,145
			$[M+Na]^+$	$C_{12}H_{11}O_3NNa$	240,0628	240,0631	−1,351
6	flavoklorin E	$C_{16}H_{18}O_5NCl$	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{19}O_5NCl^{35}$	340,0944	340,0946	−0,785
			$[M+2+H]^+$	$C_{16}H_{19}O_5NCl^{37}$	342,0912	342,0917	−1,335
7	flavoklorin F	$C_{16}H_{18}O_5NCl$	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{19}O_5NCl^{35}$	340,0944	340,0946	−0,696
			$[M+2+H]^+$	$C_{16}H_{19}O_5NCl^{37}$	342,0913	342,0917	−1,160
8	flavoklorin A	$C_{15}H_{18}O_3NCl$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{19}O_3NCl^{35}$	296,1045	296,1048	−1,039
			$[M+2+H]^+$	$C_{15}H_{19}O_3NCl^{37}$	298,1016	298,1018	−0,763
9	flavoklorin B	$C_{13}H_{14}O_2NCl$	$[M+H]^+$	$C_{13}H_{15}O_2NCl^{35}$	252,0783	252,0786	−1,162
			$[M+2+H]^+$	$C_{13}H_{15}O_2NCl^{37}$	254,0753	254,0756	−1,310
10	flavoklorin C	$C_{16}H_{20}O_3NCl$	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{21}O_3NCl^{35}$	310,1202	310,1204	−0,863
			$[M+2+H]^+$	$C_{16}H_{21}O_3NCl^{37}$	312,1171	312,1175	−1,178
11	flavoklorin G	$C_{18}H_{22}O_4NCl$	$[M+H]^+$	$C_{18}H_{23}O_4NCl^{35}$	352,1307	352,1310	−0,859
			$[M+2+H]^+$	$C_{18}H_{23}O_4NCl^{37}$	354,1276	354,1281	−1,418
12	flavoklorin D	$C_{13}H_{13}O_3Cl$	$[M+H]^+$	$C_{13}H_{14}O_3Cl^{35}$	253,0622	253,0626	−1,417
			$[M+2+H]^+$	$C_{13}H_{14}O_3Cl^{37}$	255,0593	255,0596	−1,444

A *F. fulophazii* izolátumok kivonataiban az öt tetrámsav típusú vegyület mellett detektáltunk további hét összetevőt (**6–12**), melyek a HR-MS spektrumaikban jelentkező $[M+H]^+$ és $[M+H+2]^+$ izotóp csúcsok 3:1 aránya alapján klórtartalmú vegyületek lehetnek (11. ábra, 7. táblázat). Közülük a **8** és **11** összetevőket sárga, amorf anyagok formájában izoláltuk, szerkezetüket NMR spektroszkópia módszerrel is meghatároztuk.

Az UV spektruma (F.4.F ábra) alapján 266 és 380 nm-en elnyelési maximumot mutató **8** összetevőre a pozitív ionizáció mellett detektálható, ^{35}Cl és ^{37}Cl izotópokat tartalmazó protonált molekuláiból (11.B, 11.B' ábrák) a $C_{15}H_{18}O_3NCl$ összegképlet számítható (7. táblázat). NMR spektrumai alapján a nitrogéntartalmú azafilon típusú vegyületek közé sorolható, melyek kétgyűrűs, eredetileg piranokinin alapvázában a pirán oxigén – ammóniával vagy primer aminokkal ($R-NH_2$) való reakció során – nitrogénre cserélődött. Az összetevő protonált molekuláinak tandem tömegspektrumaiban detektálható fragmentumok zömmel a kétgyűrűs alapvázhoz kapcsolódó hidroxi-etil csoportnak ($-CH_2-CH_2-OH$), valamint a propil oldallánc részleteinek egymást követő ($-CH_3$, $-CH_2-CH_3$, $-CH_2-CH_2-CH_3$) kilépésével keletkeznek ($[M+H-a]^+$, $[M+H-b]^+$, $[M+H-a-b]^+$, $[M+H-a-c]^+$, $[M+H-a-d]^+$ fragmentum ionok). Ezek mellett megjelenik fragmentumként maga a klóros

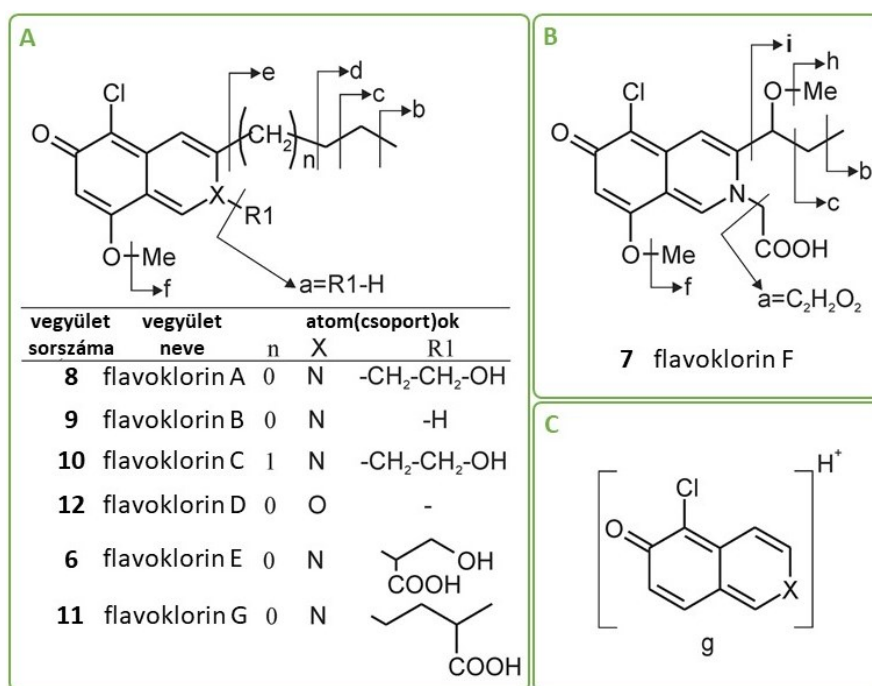
alapváz ($[g+H]^+$), illetve az abból formil-klorid kilépésével keletkező molekularészlet ($[g+H-CHClO]^+$) is (12., F.6.C, F.6.C' ábrák, F.6. táblázat). Az MS és NMR adatok alapján **8** egy új, természetes, klór- és nitrogéntartalmú, azafilon típusú vegyület, melynek a flavoklorin A nevet adtuk.

A kivonatokban detektált további hat klórtartalmú összetevő (**6, 7, 9–12**) tandem tömegspektrumaiban megjelennek a flavoklorin A vegyületre jellemző – **12** esetében a nitrogén helyett oxigént tartalmazó – klóros alapváznak ($[g+H]^+$), illetve az abból formil-klorid kilépésével keletkező molekularészletnek megfelelő ionok ($[g+H-CHClO]^+$) (F.6. ábra, F.6., F.7. táblázatok). Ez alapján megállapítható, hogy mind a hét klórtartalmú összetevő ugyanazon, jellemzően nitrogéntartalmú alapvázal rendelkezik. A **9, 10** és **12** összetevők esetében az alapvázhoz C-3, illetve N-2 vagy O-2 pozíciókban kapcsolódó oldalláncok felépítését az összetevők tandem tömegspektrumait elemezve határoztuk meg. Ezek alapján mindhárom összetevő új, természetes, klórtartalmú, azafilon típusú vegyület, a **9** összetevőnek a flavoklorin B, a **10** összetevőnek a flavoklorin C, míg a **12** összetevőnek a flavoklorin D nevet adtuk. Míg a flavoklorin A, B és C vegyületek alapvázában a pirán oxigén helyén nitrogén található és ezért nem lépnek kölcsönhatásba más nitrogéntartalmú vegyületekkel, addig a pirán oxigénnel rendelkező flavoklorin D reagálhat például aminosavakkal. A **11** összetevőre számított $C_{18}H_{22}O_4NCl$ összegképlet és a flavoklorin D vegyület $C_{13}H_{13}O_3Cl$ összegképlete közti különbség, s így **11** kialakulása magyarázható például a flavoklorin D molekula $C_5H_{11}O_2N$ összegképletű valin aminosavval való, az aminosav beépülésével és a pirán oxigén nitrogénre cserélődésével járó reakciójával. Az izolált, a flavoklorin A molekuláéval azonos UV spektrumú (F.4.G ábra) **11** egy molekularészleteként az NMR spektrumok alapján a valin aminosav egy konstitúciós izomere, a norvalin azonosítható, a pirán oxigént helyettesítő nitrogénhez ugyanis egy $-CH_2-CH_2-CH-COOH-(CH_3)$ felépítésű oldallánc kapcsolódik. Ez az oldallánc a flavoklorin A nitrogénjéhez kapcsolódó hidroxetil oldallánchoz hasonlóan egy az egyben le is válik a protonált molekula fragmentálása során (12., F.6.F, F.6.F' ábrák, F.7. táblázat). Az MS és NMR adatok alapján **11** szintén egy új, természetes, klór- és nitrogéntartalmú, azafilon típusú vegyület, feltételezhetően a flavoklorin D norvalin aminosavval képzett származéka, melynek a flavoklorin G nevet adtuk.



11. ábra. *Flavomyces fulophazii* tenyészet metil-alkohol oldószerrel készített kivonatában azonosított azafilon típusú összetevők (flavoklorin E (6), flavoklorin F (7), flavoklorin A (8), flavoklorin B (9), flavoklorin C (10), flavoklorin G (11), flavoklorin D (12)) protonált molekuláira szelektív (m/z 340,1 (A), m/z 296,1 (B), m/z 252,1 (C), m/z 310,1 (D), m/z 352,1 (E), m/z 253,1 (F)) HPLC-MS kromatogramok ezen összetevők szerkezeti képleteivel (A–F) és HR-MS spektrumaival (pozitív ionizáció) (A'–F'). Berek-Nagy és mtsai (2021) 3. ábra módosítva.

Továbbra is szem előtt tartva a pirán oxigénnel rendelkező azafilon típusú vegyületek primer aminokkal szembeni reakciókészségét, a **6** összetevőre számított $C_{16}H_{18}O_5NCl$ összegképlet és a flavoklorin D vegyület $C_{13}H_{13}O_3Cl$ összegképlete közti különbség, s így **6** kialakulása magyarázható a flavoklorin D molekula $C_3H_7O_3N$ összegképletű szerin aminosavval való, az aminosav beépülésével és a pirán oxigén nitrogénre cserélődésével járó reakciójával. Az összetevő protonált molekuláiból keletkező fragmentum ionok is a szerin jelenlétére utalnak (12., F.6.A, F.6.A' ábrák, F.7. táblázat). Ezen MS adatok alapján **6** is egy új, természetes, klór- és nitrogéntartalmú, azafilon típusú vegyület, feltételezhetően a flavoklorin D szerin aminosavval képzett származéka, melynek a flavoklorin E nevet adtuk. A **7** összetevőre számított $C_{16}H_{18}O_5NCl$ összegképlet megegyezik a flavoklorin E összegképletével, miszerint e vegyületek egymás konstitúciós izomerei. A **7** összetevő tandem tömegspektrumai alapján a flavoklorin E molekula szerin eredetű oldalláncának hidroxil-etil csoportja a **7** propil oldalláncának C-9 szénatomjához, metil-éter molekularészletként kapcsolódhat (12., F.6.B, F.6.B' ábrák, F.7. táblázat) Ezek alapján **7** szintén egy új, természetes, klór- és nitrogéntartalmú, azafilon típusú vegyületnek bizonyult, melynek a flavoklorin F nevet adtuk.



12. ábra. *Flavomyces fulophazii* tenyészet metil-alkohol oldószerrel készített kivonatában azonosított azafilon típusú **6**, **8-12** (A) és **7** (B) összetevők MS fragmentálódása, valamint alapváz-specifikus fragmentum ionjuk (g) szerkezete (C). Az összetevők protonált molekuláiból különböző ütközési energiák mellett keletkező fragmentum ionokat (a-i) és relatív intenzitásait az F.6. és F.7. táblázatok tartalmazzák. Berek-Nagy és mtsai (2021) 4. ábra módosítva.

A *F. fulophazii* endofiton gomba kivonataiban összességében öt tetrámsav- (1–5) és hét azafilon típusú (6–12) összetevőt azonosítottunk, melyek a vermelhotin (5) kivételével új, természetes vegyületeknek bizonyultak.

A *F. fulophazii* endofiton gomba kivonataiban azonosított 12 összetevő mennyiségét mind a 17 izolátum (HF-1–HF-10 és MF-1–MF-7) mindhárom párhuzamos tenyésztésben (A, B, C) megállapítottuk (F.7. ábra, F.8. táblázat). A felhasznált kalibrációs egyenese meghatározására az izolált vermelhotin, hidroxivermelhotin, illetve flavoklorin A vegyületek 0,10–16,0 ng tartományba eső mennyiségeit mértük. A kalibrációs egyenesekhez tartozó R^2 érték 0,998 lett a vermelhotin és a flavoklorin A, míg 0,999 a hidroxivermelhotin esetében. A vermelhotin származékainak mennyiségi meghatározására a hidroxivermelhotin, míg az azafilon típusú vegyületekére a flavoklorin A kalibrációs egyenesét használtuk fel.

A tetrámsav típusú vegyületek közül mindegyik tenyésztésben a vermelhotin fordult elő a legnagyobb mennyiségben, a tenyészetek száraztömegére vonatkoztatott, átlagos koncentrációja a HF-3 és MF-7 izolátumok esetében elérte az 5,3 és 5,5 mg/g értékeket. A vermelhotin kinyeréséhez e két izolátum három-három liofilizált tenyésztét használtuk fel (F.8. táblázat). Tekintettel a vermelhotin felhasznált tenyészetekben tapasztalt koncentrációjára és a tenyészetek össztömegére (1,09 g), elméletileg 5,9 mg vermelhotin izolálására lett volna lehetőségünk. Mivel az izolálás során 4,8 mg tiszta anyagra tettünk szert, ami az elméletileg izolálható maximális mennyiség (5,9 mg) 80%-a, a *F. fulophazii* endofiton gomba alkalmasnak bizonyult a vermelhotin magas hozamú kinyerésére.

A vermelhotin származékainak (dihidroxivermelhotin, hidroxivermelhotin, oxovermelhotin és metoxivermelhotin) koncentrációja a tenyészetekben a vermelhotin koncentrációja szerint, ugyanakkor annál jellemzően legalább egy nagyságrenddel alacsonyabban alakult. A származékok közül mindegyik tenyésztésben a hidroxivermelhotin fordult elő a legnagyobb mennyiségben, koncentrációja a HF-3 és MF-7 izolátumok esetében elérte az 1,1 és 1,0 mg/g értékeket. Ennek megfelelően ezt az összetevőt is e két izolátum tenyészeiből izoláltuk (F.8. táblázat).

Az azafilon típusú vegyületek közül a tenyészetek többségében a flavoklorin A fordult elő a legnagyobb mennyiségben. Koncentrációja a HF-1, HF-9 és MF-3 izolátumok egyes tenyészeiben kiemelkedően magasán (HF-1-A: 3,1 mg/g, HF-9-B: 2,2 mg/g, MF-3-B: 4,2 mg/g), ugyanakkor párhuzamos tenyészeikben legalább egy nagyságrenddel alacsonyabban alakult. E három izolátum fent megadott, a flavoklorin A összetevőt kiemelkedő

menyiségben tartalmazó egy-egy párhuzamos tenyészetét használtuk fel a vegyület izolálására (F.8. táblázat).

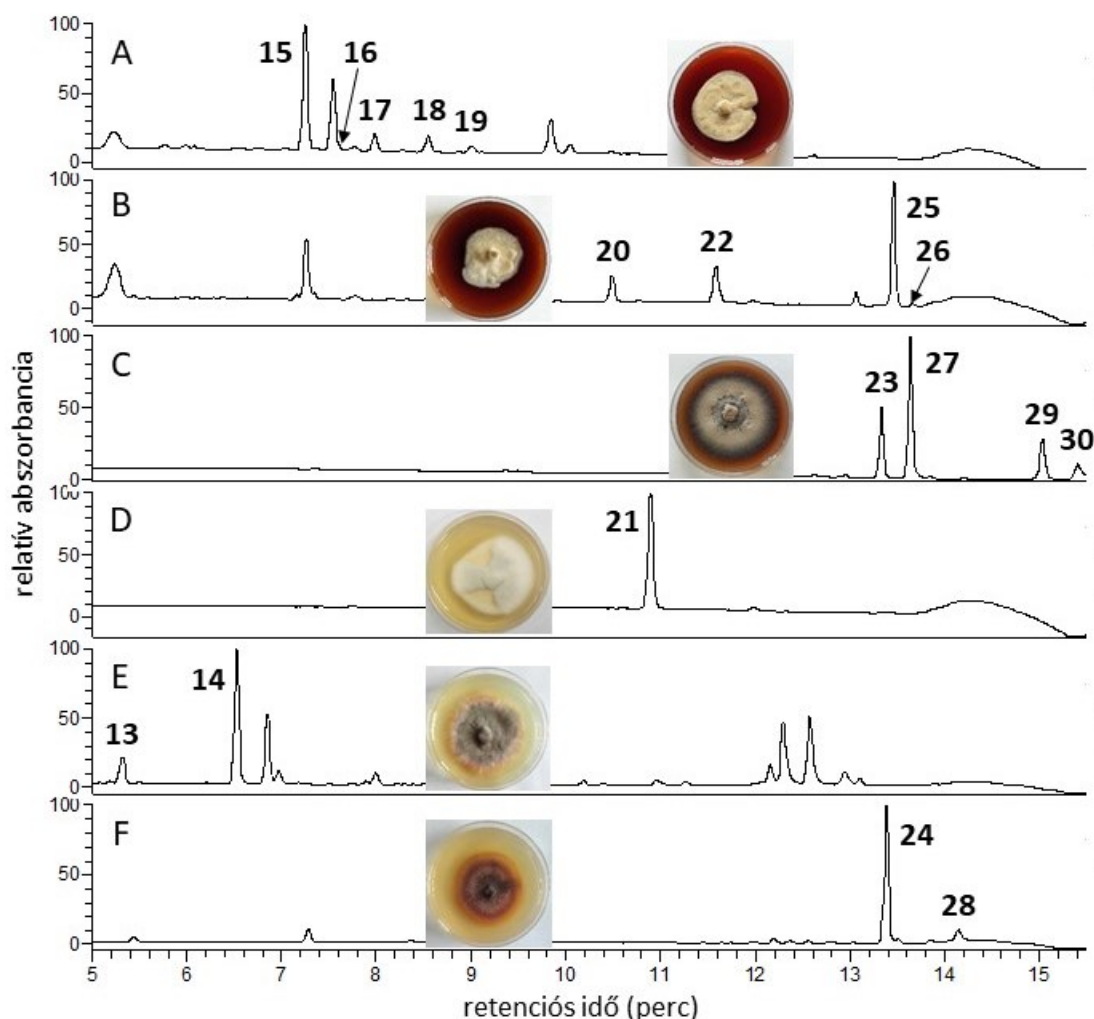
A többi azafilon típusú összetevő (flavoklorin B–G) koncentrációja a tenyészetekben a flavoklorin A koncentrációja szerint, ugyanakkor annál jellemzően legalább egy nagyságrenddel alacsonyabban alakult. Egyedül a flavoklorin D koncentrációja esett sok esetben azonos nagyságrendbe a flavoklorin A koncentrációjával, ugyanakkor még így is jellemzően alacsonyabban alakult. A flavoklorin G összetevőt a flavoklorin A kinyerésére használt, fent nevezett három tenyészetből, illetve a vermelhotin és hidroxivermelhotin kinyerésére használt HF-3 izolátum három, a flavoklorin G összetevőt viszonylag nagyobb mennyiségben tartalmazó tenyészetéből izoláltuk (F.8. táblázat).

Az egyes tetrámsav- és azafilon típusú összetevők koncentrációi tekintetében a különböző izolátumok és az egyes izolátumok párhuzamos tenyészei között jelentős különbségeket tapasztaltunk (F.8. táblázat). Ez alapján a *F. fulophazii* endofiton gomba e vegyületek értékes, ugyanakkor kifejezetten változatos hozamú forrásának bizonyult.

4.4.1.2 Darksidea izolátumok vegyületei

A *Darksidea* nemzetség 15 leszármazási vonalát reprezentáló 106 izolátum másodlagos anyagcseretermékeinek meghatározása során összesen 18 összetevőt (**13–30**) azonosítottunk (13., F.8. ábrák, 8. táblázat).

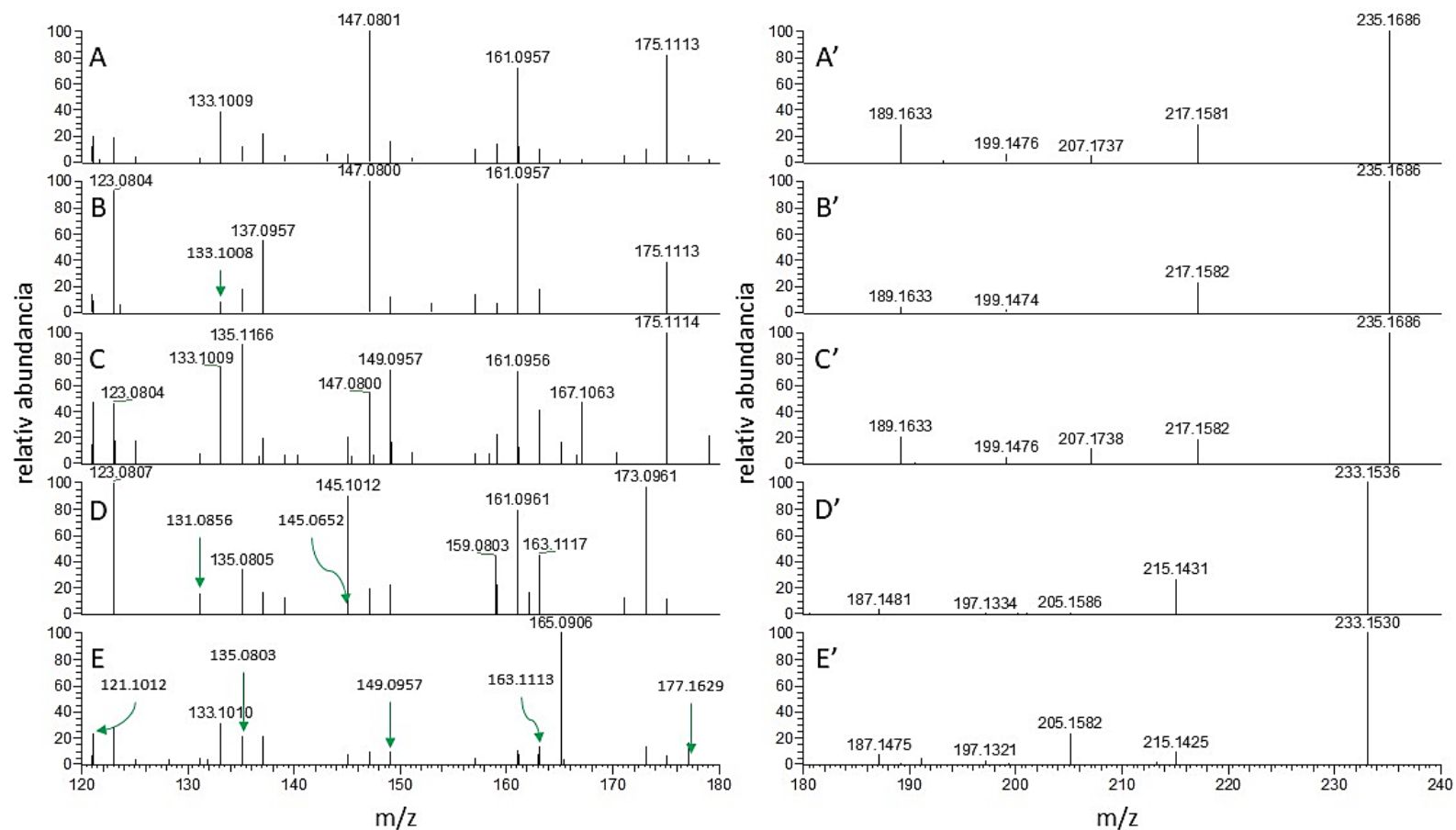
A *D. alpha* izolátumok döntő többségének kivonatában egy fő összetevőt (**15**) detektáltunk (13.A ábra), mely 240 nm-es elnyelési maximummal (F.9.C ábra) és $C_{15}H_{22}O_2$ összegképlettel (8. táblázat) rendelkezik. Az UV, MS és NMR spektrumai alapján **15** a petaszol (Sugama és mtsai 1983) (15. ábra). Protonált molekuláinak (m/z 235,17 ($C_{15}H_{23}O_2$)) tandem tömegspektrumában jelentkező ionok közül az m/z 217,16 ($C_{15}H_{21}O$) fragmentum ion egy vízmolekula, az m/z 207,17 ($C_{14}H_{23}O$) fragmentum ion egy szén-monoxid molekula, míg az m/z 199,15 ($C_{15}H_{19}$) és az m/z 189,16 ($C_{14}H_{21}$) fragmentum ionok rendre két vízmolekula, illetve egy víz- és egy szén-monoxid molekula kilépésével keletkezhetnek. Az m/z 175,11 ($C_{12}H_{15}O$) fragmentum ion egy vízmolekula és az izopropenil oldallánc kilépésével, míg az m/z 161,10 ($C_{11}H_{13}O$) és m/z 147,08 ($C_{10}H_{11}O$) fragmentum ionok további két metilcsoport egymást követő kilépésével jöhetnek létre. Az m/z 133,10 ($C_{10}H_{13}$) fragmentum ion az m/z 161,10 ionból, egy szén-monoxid molekula kilépésével képződhet (14.A, A', 15. ábrák).



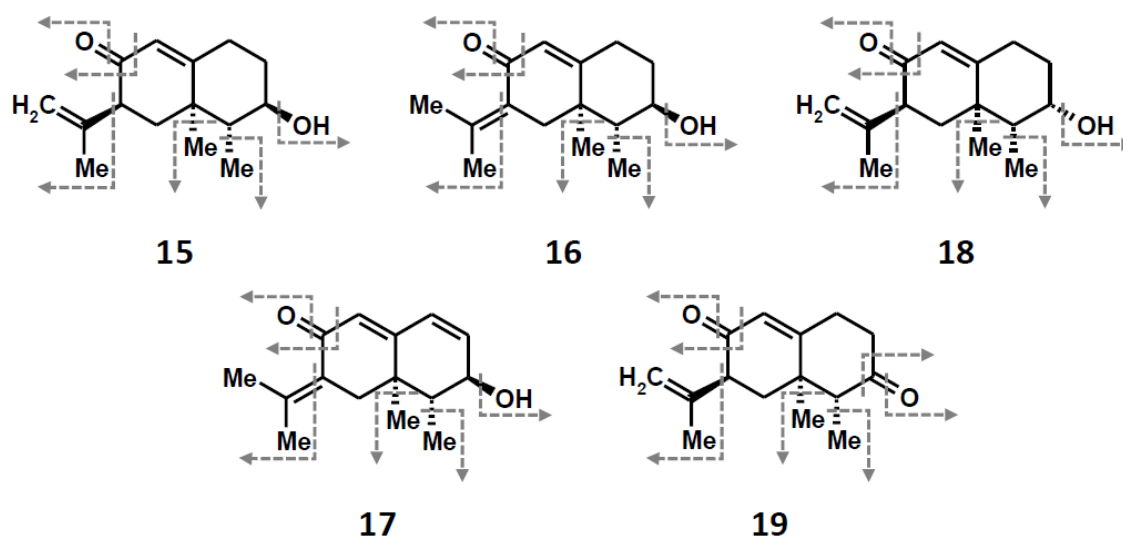
13. ábra. Magyarországról (A) és Kazahsztánból (B) származó *Darksidea alpha* (A, B), *D. beta* (C), *D. eta* nom. prov. (D), *D. theta* nom. prov. (E) és *D. phi* (F) izolátumok metabolikus összetételét bemutató HPLC-UV kromatogramok ($\lambda=250\text{--}600\text{ nm}$ (A, B, D–F), $230\text{--}600\text{ nm}$ (C)) az azonosított összetevőkkel (13–30) (8. táblázat) és az izolálásukhoz felhasznált tenyészetek fotóival. Fotók: Berek-Nagy Péter János.

A *D. alpha* izolátumok tenyészeiből a petaszol mellett, azzal rokon szerkezetű összetevőket (16–19) is azonosítottunk (13.A ábra).

Ezek közül a szintén 240 nm-es elnyelési maximummal rendelkező 18, valamint a 248 és 284 nm-en egyaránt elnyelési maximumot mutató 16 (F.9.D, F ábrák), HR-MS adataik alapján, a petaszol izomerjei (8. táblázat). Az UV, MS és NMR spektrumaik alapján 16 az izopetaszol, 18 a 3-epi-petaszol (Sugama és mtsai 1983, Le és mtsai 2013) (15. ábra). Fragmentálódásuk a petaszol fragmentálódásának megfelelően zajlik, azzal az eltéréssel, hogy az izopetaszol protonált molekuláiból első lépésben szén-monoxid nem, csak vízmolekula képes kilépni (14.B, B', C, C', 15. ábrák).



14. ábra. *Darksidea alpha* tenyészetekből izolált **15–19** összetevők pozitív ionizáció mellett felvett HR-MS/MS spektrumai (m/z 120–180 (A–E), m/z 180–240 (A'–E')): petaszol (**15**) (A, A'), izopetaszol (**16**) (B, B'), 3-epi-petaszol (**18**) (C, C'), oxidált izopetaszol (**17**) (D, D') és oxidált petaszol (**19**) (E, E'). Ütközési energia: 10 eV.



15. ábra. *Darksidea alpha* tenyészetekből izolált **15–19** összetevők (petaszol (**15**), izopetaszol (**16**), 3-epi-petaszol (**18**), oxidált izopetaszol (**17**) és oxidált petaszol (**19**)) szerkezeti képletei és feltételezett fragmentálódásuk.

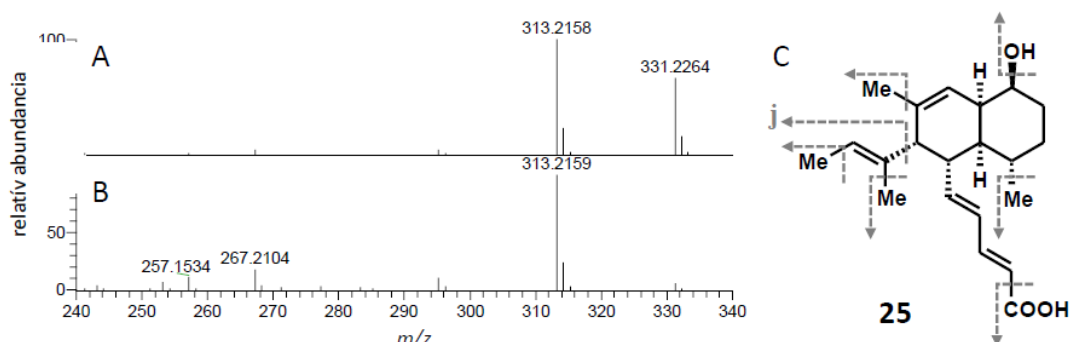
A másik két, szintén rokon szerkezetű összetevő közül a **17** 294 nm-en, a **19** pedig 236 nm-en mutat elnyelési maximumot (F.9.E, G ábrák). HR-MS adataik alapján egymás izomerjei, $C_{15}H_{20}O_2$ összegképletükkel molekuláik a petaszol molekuláihoz képest két hidrogénatommal kevesebbet tartalmaznak (8. táblázat). Az UV, MS és NMR spektrumaik alapján **17** és **19** az izopetaszol és a petaszol oxidált származékai, melyek új, természetes vegyületek (15. ábra). Az izopetaszol oxidált származékának (**17**) tandem tömegspektrumában, a protonált molekulák (m/z 233,15 ($C_{15}H_{21}O_2$)) mellett jelentkező fragmentum ionok (m/z 215,14 ($C_{15}H_{19}O$), m/z 205,16 ($C_{14}H_{21}O$), m/z 197,13 ($C_{15}H_{17}$), m/z 187,15 ($C_{14}H_{19}$), m/z 173,10 ($C_{12}H_{13}O$), m/z 159,08 ($C_{11}H_{11}O$), m/z 145,07 ($C_{10}H_9O$) és m/z 131,09 ($C_{10}H_{11}$)) a petaszol fragmentálódásának megfelelően keletkezhettek (14.D, D', 15. ábrák). A petaszol oxidált származékának (**19**) tandem tömegspektrumában, a protonált molekulák (m/z 233,15 ($C_{15}H_{21}O_2$)) mellett jelentkező fragmentum ionok (m/z 215,14 ($C_{15}H_{19}O$), m/z 205,16 ($C_{14}H_{21}O$), m/z 197,13 ($C_{15}H_{17}$), m/z 187,15 ($C_{14}H_{19}$), m/z 163,11 ($C_{11}H_{15}O$), m/z 149,10 ($C_{10}H_{13}O$), m/z 135,08 ($C_9H_{11}O$) és m/z 121,10 (C_9H_{13})) szintén a petaszol fragmentálódásának megfelelően keletkezhettek azzal a különbséggel, hogy az izopropenil oldallánc kilépése és a fragmentáció azt követő lépései a protonált molekulákból nem vízmolekula, hanem szén-monoxid molekula kilépésével nagyobb arányban keletkező m/z 205,16 fragmentum ionból vezethetők le. A **19** összetevőre jellemző további karbonilcsoport ebből a fragmentum ionból is kihasadhat (m/z 205,16 ($C_{14}H_{21}O$) $\rightarrow$ m/z 177,16 ($C_{13}H_{21}$)), közvetlenül az első karbonilcsoport kilépését (m/z 233,15 ($C_{15}H_{21}O_2$) $\rightarrow$ m/z 205,16 ($C_{14}H_{21}O$)) követően (14.E, E', 15. ábrák).

8. táblázat. A *Darksidea* izolátumok tenyészeiben azonosított vegyületek (13–30) nagyfelbontású tömegspektrometriás (HRMS) adatai.

vegyület sorszáma	vegyület neve	vegyület összegképlete	detektált ion	detektált ion összegképlete	detektált m/z	számított m/z	eltérés (ppm)
13	PF1092C C-2 epimerje	$C_{15}H_{18}O_4$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{19}O_4$	263,1274	263,1278	–1,427
			$[M+Na]^+$	$C_{15}H_{18}O_4Na$	285,1090	285,1097	–2,456
			$[M+NH_4]^+$	$C_{15}H_{22}O_4N$	280,1541	280,1543	–1,016
			$[M-H]^-$	$C_{15}H_{17}O_4$	261,1131	261,1121	+3,809
			$[M+COOH]^-$	$C_{16}H_{19}O_6$	307,1188	307,1176	+3,989
14	PF1092C	$C_{15}H_{18}O_4$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{19}O_4$	263,1273	263,1278	–1,655
			$[M+Na]^+$	$C_{15}H_{18}O_4Na$	285,1091	285,1097	–2,316
			$[M+NH_4]^+$	$C_{15}H_{22}O_4N$	280,1541	280,1543	–0,802
			$[M-H]^-$	$C_{15}H_{17}O_4$	261,1133	261,1121	+4,383
			$[M+COOH]^-$	$C_{16}H_{19}O_6$	307,1189	307,1176	+4,087
15	petaszol	$C_{15}H_{22}O_2$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{23}O_2$	235,1689	235,1693	–1,601
			$[M+Na]^+$	$C_{15}H_{22}O_2Na$	257,1509	257,1512	–1,132
16	izopetaszol	$C_{15}H_{22}O_2$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{23}O_2$	235,1688	235,1693	–1,984
			$[M+Na]^+$	$C_{15}H_{22}O_2Na$	257,1512	257,1512	+0,034
17	16 oxidált származéka	$C_{15}H_{20}O_2$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{21}O_2$	233,1533	233,1536	–1,357
			$[M+Na]^+$	$C_{15}H_{20}O_2Na$	255,1346	255,1356	–3,571
18	3-epi-petaszol	$C_{15}H_{22}O_2$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{23}O_2$	235,1683	235,1693	–3,940
			$[M+Na]^+$	$C_{15}H_{22}O_2Na$	257,1502	257,1512	–3,738
19	15 oxidált származéka	$C_{15}H_{20}O_2$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{21}O_2$	233,1527	233,1536	–3,759
			$[M+COOH]^-$	$C_{16}H_{21}O_4$	277,1442	277,1434	+2,758
20	aszkomikon B	$C_{15}H_{12}O_6$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{13}O_6$	289,0701	289,0707	–1,849
			$[M+Na]^+$	$C_{15}H_{12}O_6Na$	311,0521	311,0526	–1,766
			$[M-H]^-$	$C_{15}H_{11}O_6$	287,0562	287,0550	+3,956
21	monocerin	$C_{16}H_{20}O_6$	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{21}O_6$	309,1326	309,1333	–1,859
			$[M+Na]^+$	$C_{16}H_{20}O_6Na$	331,1146	331,1152	–1,962
22	6-deoxi-bosztrikoidin	$C_{15}H_{11}O_4N$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{12}O_4N$	270,0756	270,0761	–1,719
			$[M-H]^-$	$C_{15}H_{10}O_4N$	268,0616	268,0604	+4,274
23	epikokkamid A	$C_{29}H_{51}O_9N$	$[M+H]^+$	$C_{29}H_{52}O_9N$	558,3630	558,3637	–1,108
			$[M+Na]^+$	$C_{29}H_{51}O_9NNa$	580,3448	580,3456	–1,401
			$[M+NH_4]^+$	$C_{29}H_{55}O_9N_2$	575,3887	575,3902	–2,568
			$[M-H]^-$	$C_{29}H_{50}O_9N$	556,3493	556,3480	+2,321
24	F2928-1	$C_{27}H_{36}O_7$	$[M+H]^+$	$C_{27}H_{37}O_7$	473,2529	473,2534	–1,014
			$[M+Na]^+$	$C_{27}H_{36}O_7Na$	495,2346	495,2353	–1,423
			$[M+NH_4]^+$	$C_{27}H_{40}O_7N$	490,2793	490,2799	–1,222
			$[M-H]^-$	$C_{27}H_{35}O_7$	471,2387	471,2377	+2,144
			$[M+COOH]^-$	$C_{28}H_{37}O_9$	517,2443	517,2432	+2,148
25	fomopszidin	$C_{21}H_{30}O_3$	$[M+H]^+$	$C_{21}H_{31}O_3$	331,2262	331,2268	–1,634
			$[M+Na]^+$	$C_{21}H_{30}O_3Na$	353,2081	353,2087	–1,744
			$[M+NH_4]^+$	$C_{21}H_{34}O_3N$	348,2527	348,2533	–1,724
			$[M-H]^-$	$C_{21}H_{29}O_3$	329,2124	329,2111	+3,793
			$[M+COOH]^-$	$C_{22}H_{31}O_5$	375,2178	375,2166	+3,277
26	aszkomikon A	$C_{16}H_{14}O_6$	$[M-H]^-$	$C_{16}H_{13}O_6$	301,0717	301,0707	+3,605
27	23 uronsavas származéka	$C_{29}H_{49}O_{10}N$	$[M+H]^+$	$C_{29}H_{50}O_{10}N$	572,3424	572,3429	–0,896
			$[M+Na]^+$	$C_{29}H_{49}O_{10}NNa$	594,3240	594,3249	–1,393
			$[M-H]^-$	$C_{29}H_{48}O_{10}N$	570,3286	570,3273	+2,239
28	F2928-2	$C_{27}H_{36}O_6$	$[M+H]^+$	$C_{27}H_{37}O_6$	457,2579	457,2585	–1,302
			$[M+Na]^+$	$C_{27}H_{36}O_6Na$	479,2399	479,2404	–1,002
			$[M+NH_4]^+$	$C_{27}H_{40}O_6N$	474,2846	474,2850	–0,916
			$[M-H]^-$	$C_{27}H_{35}O_6$	455,2440	455,2428	+2,580
			$[M+COOH]^-$	$C_{28}H_{37}O_8$	501,2496	501,2483	+2,604
29	epikokkamid D	$C_{31}H_{55}O_9N$	$[M+H]^+$	$C_{31}H_{56}O_9N$	586,3940	586,3950	–1,567
			$[M+Na]^+$	$C_{31}H_{55}O_9NNa$	608,3757	608,3769	–1,929
			$[M+NH_4]^+$	$C_{31}H_{59}O_9N_2$	603,4214	603,4215	–0,261

			[M-H] ⁻	C ₃₁ H ₅₄ O ₉ N	584,3806	584,3793	+2,244
30	29 uronsavas származéka	C ₃₁ H ₅₃ O ₁₀ N	[M+H] ⁺	C ₃₁ H ₅₄ O ₁₀ N	600,3732	600,3742	-1,654
			[M+Na] ⁺	C ₃₁ H ₅₃ O ₁₀ NNa	622,3550	622,3562	-1,812
			[M+NH ₄] ⁺	C ₃₁ H ₅₇ O ₁₀ N ₂	617,3997	617,4008	-1,802
			[M-H] ⁻	C ₃₁ H ₅₂ O ₁₀ N	598,3599	598,3586	+2,251

Egyes, Kazahsztánból származó *D. alpha* izolátumok (KG037, KG091, KG235) tenyészeiben, a petaszol mellett kiemelkedő mértékben halmozódott fel a 268 nm-es elnyelési maximummal (F.10.E ábra) és C₂₁H₃₀O₃ összegképlettel (8. táblázat) rendelkező **25**, mely az UV, MS és NMR spektrumai alapján a fomopszidin (Kobayashi és mtsai 2003) (13.B, 16.C. ábrák). E vegyület, pozitív ionizáció mellett már az ionforrásban fragmentálódik, az MS spektrumban jelentkező *m/z* 313,22 (C₂₁H₂₉O₂) fragmentum ion és az *m/z* 331,23 (C₂₁H₃₁O₃) protonált molekula közti összegképlet-különbség (H₂O) egy hidroxilcsoport vízmolekula formájában történő kilépésére utal (16.A, C ábrák). A vegyület tandem MS spektrumában látható *m/z* 267,21 (C₂₀H₂₇) és *m/z* 313,22 ionok közti CH₂O₂ különbség a karboxilcsoport hangyasav formájában történő kilépésével, az *m/z* 257,15 (C₁₇H₂₁O₂) és *m/z* 313,22 ionok közti C₄H₈ különbség pedig a j molekularészlet, vagy a négy metilcsoport kilépésével magyarázható (16.B, C ábrák).

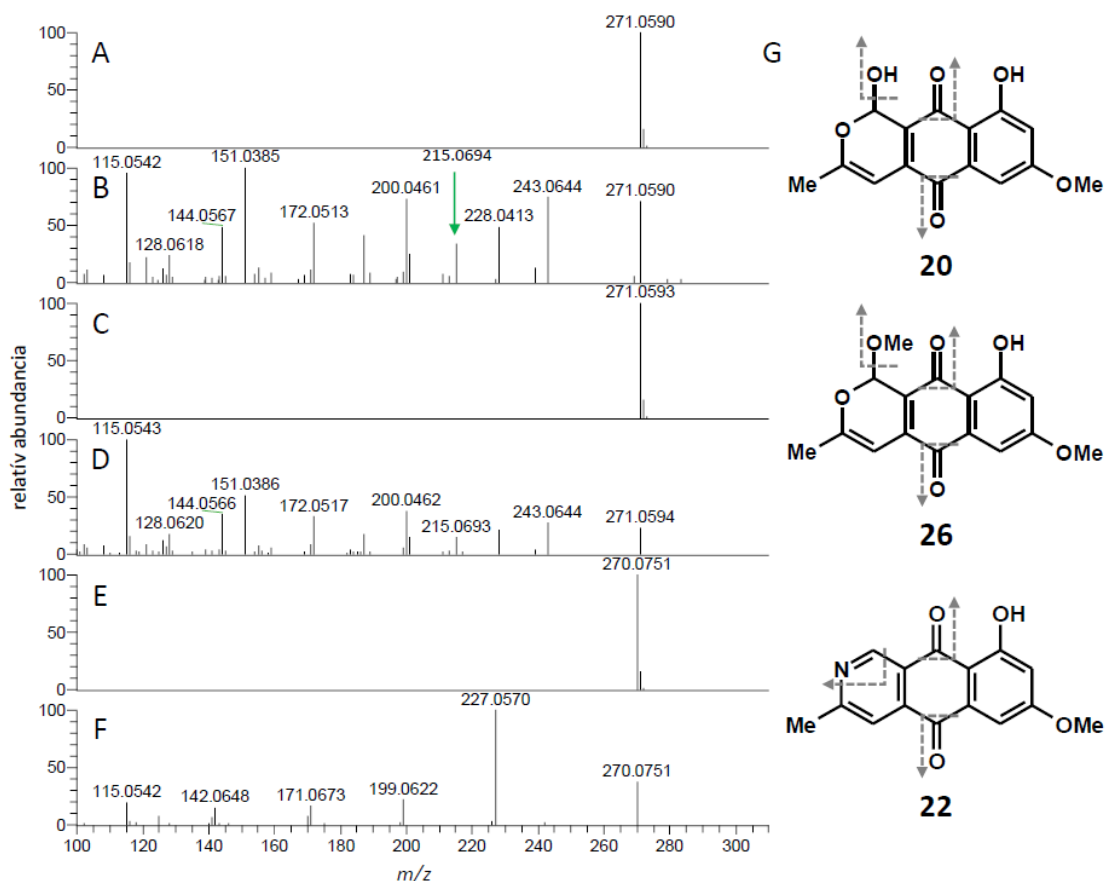


16. ábra. KG037, KG091 és KG235 *Darksidea alpha* izolátumok tenészeiből izolált fomopszidin (**25**) pozitív ionizáció mellett felvett HR-MS (A) és HR-MS/MS (B) spektrumai, valamint szerkezeti képlete és feltételezett fragmentálódása (C). Ütközési energia: 30 eV.

A KG037, KG091 és KG235 *D. alpha* izolátumok kivonataiból, a fomopszidin mellett másik három összetevőt (**20**, **22** és **26**) is izoláltunk (13.B ábra).

A **20** és **26** összetevők azonos hullámhosszokon (278 nm, 351 nm (±1 nm) és 488 nm (±2 nm)) mutatnak elnyelési maximumot (F.10.A, F ábrák), az MS spektrumaikban pozitív ionizáció mellett jelentkező *m/z* 271,06 (C₁₅H₁₁O₅) fragmentum ionok a C₁₅H₁₂O₆ összegképletű **20** esetében víz (H₂O), a C₁₆H₁₄O₆ összegképletű **26** esetében pedig metilalkohol (CH₃OH), már az ionforrásban bekövetkező kilépésével keletkezhetnek (17.A, C, G ábrák, 8. táblázat). Az UV, MS és NMR spektrumaik alapján **20** az aszkomikon B, **26** pedig az aszkomikon A (Opatz és mtsai 2008) (17.G ábra). A már az ionforrásban létrejött

m/z 271,06 ion fragmentálása során mindkét vegyület esetében ugyanazon fragmentum ionok keletkeznek. A fragmentum ionok között azonosíthatók a karbonilcsoportok szén-monoxid formájában történő kilépésével keletkező ionok (m/z 271,06 ($C_{15}H_{11}O_5$) $\rightarrow$ m/z 243,06 ($C_{14}H_{11}O_4$) $\rightarrow$ m/z 215,07 ($C_{13}H_{11}O_3$)) (17.B, D, G ábrák).

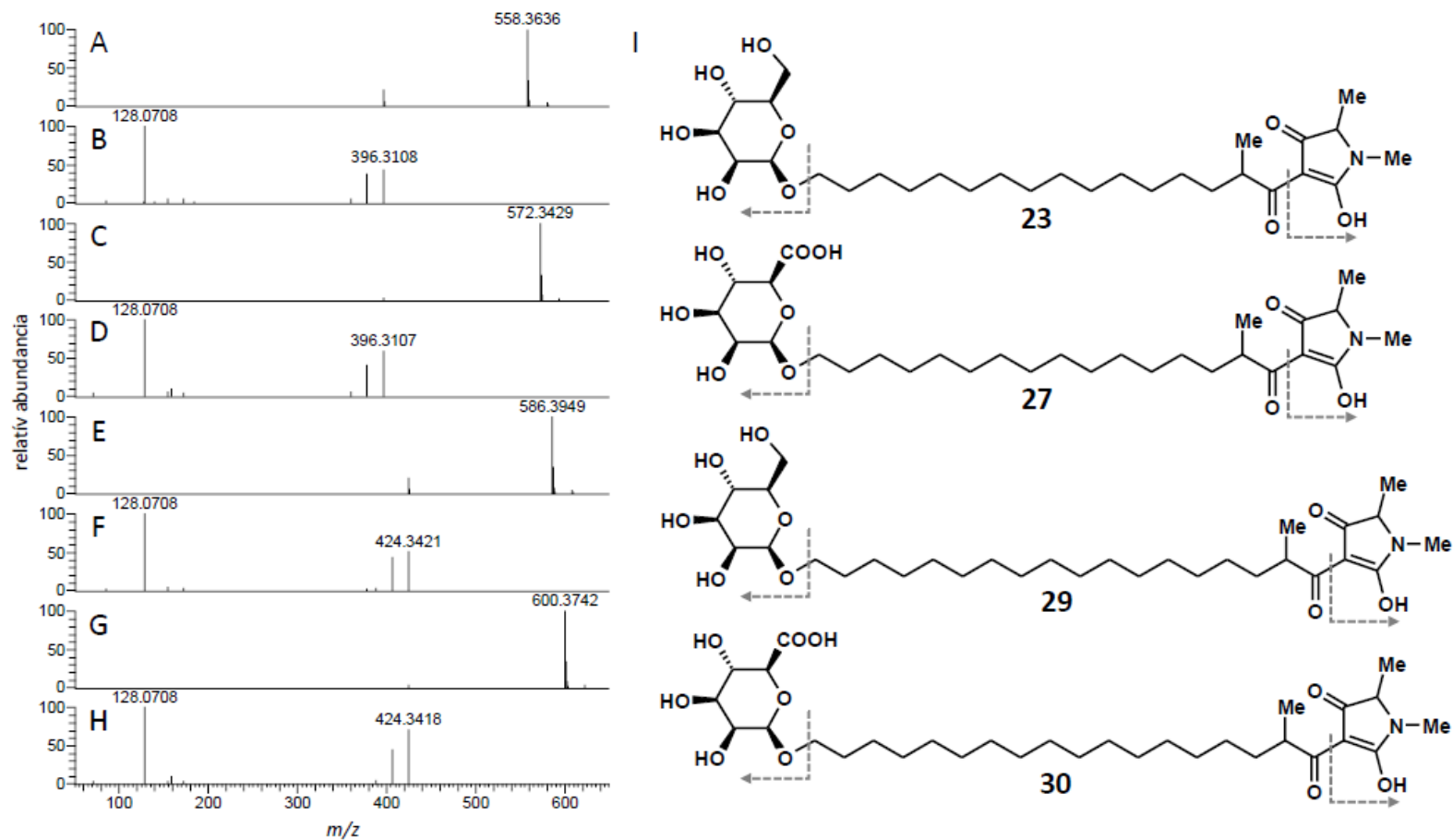


17. ábra. KG037, KG091 és KG235 *Darksidea alpha* izolátumok tenyészetéből izolált **20**, **22** és **26** pozitív ionizáció mellett felvett HR-MS (A, C, E) és HR-MS/MS (B, D, F) spektrumai, valamint szerkezeti képletei és feltételezett fragmentálódása (G): aszkomikon B (**20**) (A, B, G), aszkomikon A (**26**) (C, D, G) és 6-deoxibosztrikoidin (**22**) (E, F, G). Ütközési energia: 55 eV.

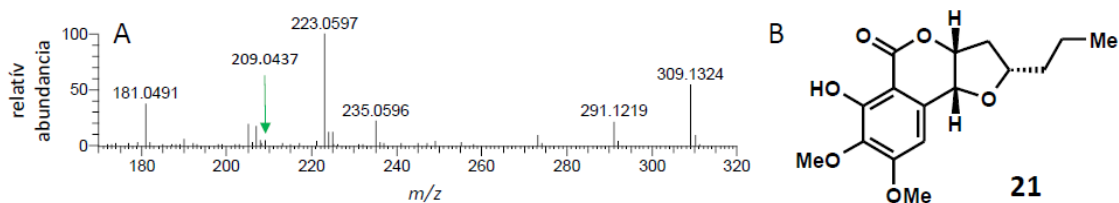
A KG037, KG091 és KG235 *D. alpha* izolátumok kivonataiból a fomopszidin, valamint az aszkomikon A és B vegyületek mellett izolált **22** összetevő 242, 272 és 416 nm-es elnyelési maximumokkal (F.10.C ábra), valamint $C_{15}H_{11}O_4N$ összegképlettel (8. táblázat) rendelkezik. Az UV, MS és NMR spektrumai alapján **22** a 6-deoxibosztrikoidin (Parisot és mtsai 1989) (17.G ábra). Szerkezetének megfelelően, protonált molekuláinak tandem tömegspektrumában azonosíthatók a karbonilcsoportok szén-monoxid formájában (m/z 227,06 ($C_{13}H_9O_3N$) $\rightarrow$ m/z 199,06 ($C_{12}H_9O_2N$) $\rightarrow$ m/z 171,07 ($C_{11}H_9ON$)), valamint a nitrogén hidrogén-cianid formájában történő kilépésével (m/z 142,06 ($C_{10}H_8N$) $\rightarrow$ m/z 115,05 (C_9H_7)) keletkező fragmentum ionok (17.F, G ábrák).

A *D. beta* egyetlen izolátumának (DSE7/11) kivonatában négy fő, kizárólag erre a fajra jellemző összetevőt (**23**, **27**, **29**, **30**) detektáltunk (13.C ábra), melyek egyaránt 284 nm-en mutatnak elnyelési maximumot (F.11. ábra). HR-MS adataik szerint a **23** összetevő $C_{29}H_{51}O_9N$, a **27** $C_{29}H_{49}O_{10}N$, a **29** $C_{31}H_{55}O_9N$, a **30** pedig $C_{31}H_{53}O_{10}N$ összegképlettel rendelkezik (8. táblázat). Az UV, MS és NMR spektrumaik alapján **23** az epikokkamid A, **29** az epikokkamid D (Wright és mtsai 2003, Wangun és mtsai 2007), míg **27** és **30** e vegyületek mannóz helyett mannuronsav molekularészletet tartalmazó, új, természetes származékai (18.I ábra). Szerkezetüket tandem MS spektrumaik is alátámasztják. Az epikokkamid A (**23**) m/z 558,36 ($C_{29}H_{52}O_9N$) protonált molekulái és m/z 396,31 ($C_{23}H_{42}O_4N$) fragmentum ionjai, valamint a két metilencsoporttal hosszabb szénláncú epikokkamid D (**29**) m/z 586,39 ($C_{31}H_{56}O_9N$) protonált molekulái és m/z 424,34 ($C_{25}H_{46}O_4N$) fragmentum ionjai közti $C_6H_{10}O_5$ különbség a mannóz molekularészlet hidrolízissel történő kilépéséből ($C_6H_{12}O_6-H_2O$) adódik (Wright és mtsai 2003, Wangun és mtsai 2007) (18.A, B, E, F, I ábrák). Hasonlóan, a **27** összetevő m/z 572,34 ($C_{29}H_{50}O_{10}N$) protonált molekulái és m/z 396,31 ($C_{23}H_{42}O_4N$) fragmentum ionjai, valamint a szintén két metilencsoporttal hosszabb szénláncú **30** összetevő m/z 600,37 ($C_{31}H_{54}O_{10}N$) protonált molekulái és m/z 424,34 ($C_{25}H_{46}O_4N$) fragmentum ionjai közti $C_6H_8O_6$ különbség a mannuronsav molekularészlet hidrolízissel történő kilépésével ($C_6H_{10}O_7-H_2O$) magyarázható (18.C, D, G, H, I ábrák). A mind a négy vegyület tandem MS spektrumaiban jelentkező m/z 128,07 ($C_6H_{10}O_2N$) fragmentum ion a vegyületekből kilépő szubsztituált tetrámsav molekularészlet ionizációjával képződik (Wright és mtsai 2003, Wangun és mtsai 2007) (18.B, D, F, H, I ábrák).

A *D. eta* nom. prov. fő vegyületének tekinthető **21** összetevő 274 nm-en mutat elnyelési maximumot (F.10.B ábra), összegképlete $C_{16}H_{20}O_6$ (8. táblázat). Az UV, MS és NMR spektrumaik alapján **21** a monocerin (Aldridge és Turner 1970) (19.B ábra). Szerkezetének megfelelően, protonált molekuláinak tandem tömegspektrumában azonosíthatók hidroxil- (m/z 309,13 ($C_{16}H_{21}O_6$) $\rightarrow$ m/z 291,12 ($C_{16}H_{19}O_5$)), metil- (m/z 223,06 ($C_{11}H_{11}O_5$) $\rightarrow$ m/z 209,04 ($C_{10}H_9O_5$)) és karbonilcsoportok (m/z 209,04 ($C_{10}H_9O_5$) $\rightarrow$ m/z 181,05 ($C_9H_9O_4$)) kilépésével keletkező fragmentum ionok (19.A ábra).

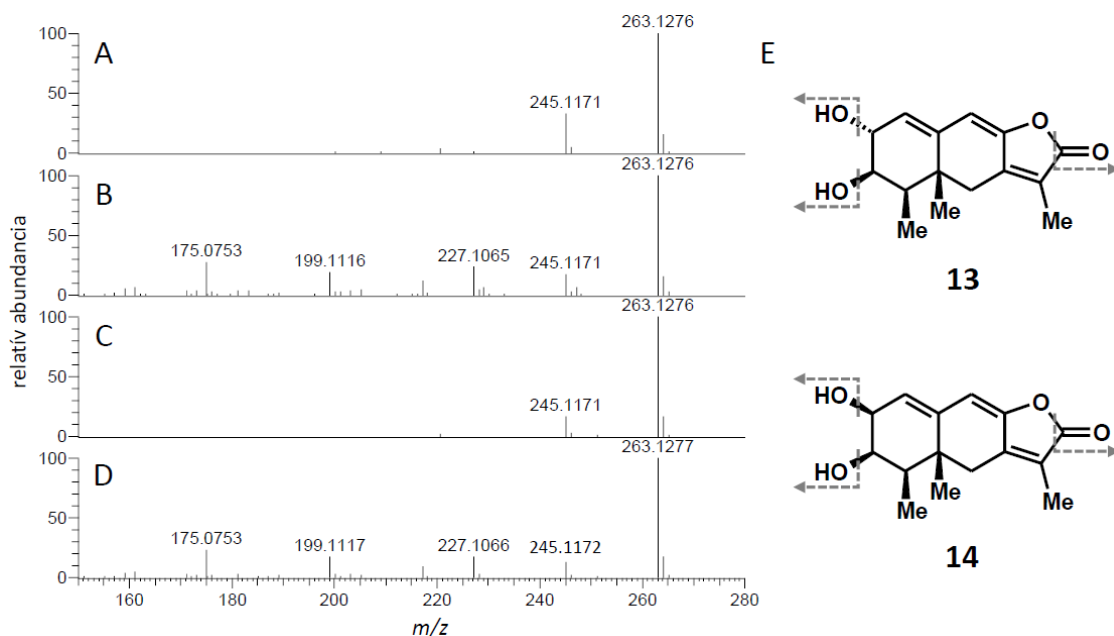


18. ábra. DSE7/11 *Darksidea beta* izolátum tenyészeiből izolált **23**, **27**, **29** és **30** pozitív ionizáció mellett felvett HR-MS (A, C, E, G) és HR-MS/MS (B, D, F, H) spektrumai, valamint szerkezeti képletei és feltételezett fragmentálódása (I): epikokkamid A (**23**) (A, B, I), **23** uronsavas származéka (**27**) (C, D, I), epikokkamid D (**29**) (E, F, I) és **29** uronsavas származéka (**30**) (G, H, I). Ütközési energia: 30 eV.



19. ábra. A *Darksidea eta* nom. prov. fajra jellemző monocerin (**21**) pozitív ionizáció mellett felvett HR-MS/MS spektruma (A) és szerkezeti képlete (B). Ütközési energia: 30 eV.

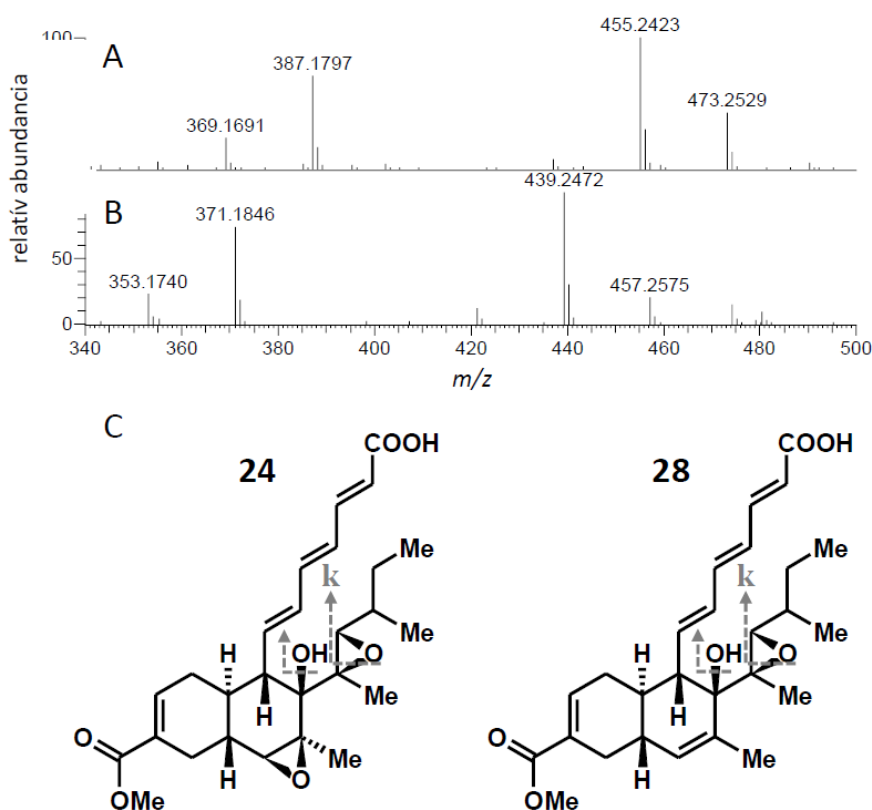
A *D. theta* nom. prov. mindkét izolátumának (DS318 és DS916) kivonatában számos, kizárólag ebben a *Darksidea* fajban felhalmozódó összetevőt detektáltunk, melyek közül kettő, UV- és MS spektrumaik hasonlósága alapján egymással izomer (F.9.A, B, 20.A–D ábrák), $C_{15}H_{18}O_4$ összegképletű (8. táblázat) összetevőt (**13**, **14**) izoláltunk is. Az UV, MS és NMR spektrumaik alapján **14** a PF1092C nevű vegyület, **13** pedig annak C-2 epimerje (Tabata és mtsai 1997a, Cheng és mtsai 2016) (20. E ábra). E vegyületek, pozitív ionizáció mellett, egy hidroxilcsoport kilépésével már az ionforrásban fragmentálódnak (20.A, C, E ábrák). A tandem MS spektrumaikra jellemző főbb ionok (m/z 245,12 ($C_{15}H_{17}O_3$), m/z 227,11 ($C_{15}H_{15}O_2$) és m/z 199,11 ($C_{14}H_{15}O$)) a két hidroxilcsoport egy-egy vízmolekulaként, továbbá a karbonilcsoport szén-monoxid molekulaként történő, egymást követő kilépésével keletkezhetnek (20.B, D, E ábrák).



20. ábra. *Darksidea theta* nom. prov. tenyészetekből izolált **13** és **14** pozitív ionizáció mellett felvett HR-MS (A, C) és HR-MS/MS (B, D) spektrumaik, valamint szerkezeti képletei és feltételezett fragmentálódása (E): PF1092C C-2 epimerje (**13**) (A, B, E) és PF1092C (**14**) (C, D, E). Ütközési energia: 30 eV.

A *D. phi* izolátumok egyikének (DS194) kivonatában a petaszol mellett két fő összetevőt (**24**, **28**) detektáltunk, melyek egyaránt 303 nm-en mutatnak elnyelési maximumot

(F.10.D, G ábrák). MS adataik szerint **24** összegképlete $C_{27}H_{36}O_7$, **28** összegképlete pedig $C_{27}H_{36}O_6$ (8. táblázat). Az UV, MS és NMR spektrumaik alapján **24** az F2928-1, **28** pedig az F2928-2 nevű vegyületek (Kanai és mtsai 2005) (21.C ábra). Mindkettő, pozitív ionizáció mellett, egy hidroxilcsoport vagy a k molekularészlet ($C_5H_{10}O$) kilépésével már az ionforrásban fragmentálódik. Míg **24** esetében a hidroxilcsoport kilépése az m/z 455,24 ($C_{27}H_{35}O_6$), a k molekularészlet kilépése pedig az m/z 387,18 ($C_{22}H_{27}O_6$) fragmentum ionok képződését eredményezi, addig **28** esetében a hidroxilcsoport kilépésével az m/z 439,25 ($C_{27}H_{35}O_5$), a k molekularészlet kilépésével pedig az m/z 371,18 ($C_{22}H_{27}O_5$) fragmentum ionok keletkeznek (21. ábra).

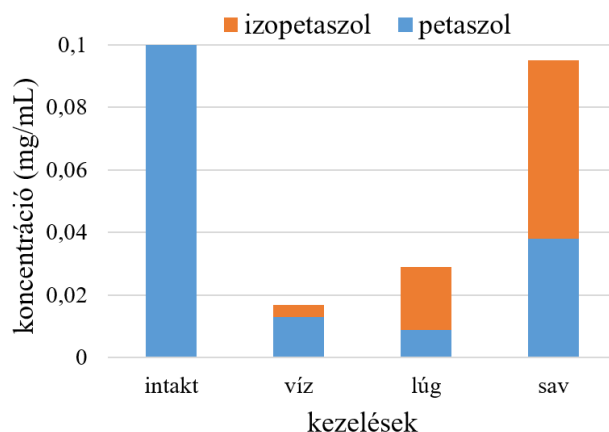


21. ábra. DS194 *Darksidea phi* izolátum tenyészetéből izolált **24** és **28** pozitív ionizáció mellett felvett HR-MS spektrumai (A, B), valamint szerkezeti képletei és feltételezett fragmentálódása (C): F2928-1 (**24**) (A, C) és F2928-2 (**28**) (B, C).

Összességében, ahogyan a *Flavomyces*, úgy a *Darksidea* nemzetségéből is elsőként azonosítottunk másodlagos anyagcseretermékeket, melyek közül a petaszol és az izopetaszol oxidált származékai (**19** és **17**), továbbá az epikokkamid A és D uronsavas származékai (**27** és **30**) új, természetes vegyületek.

A *Darksidea* izolátumok zömében, számos rokon szerkezetű összetevő mellett termelődő petaszol izomerizációját tanulmányozva, a vegyületet különféle kezeléseknek vetettük alá, melyek eredményei az alábbiak szerint alakultak.

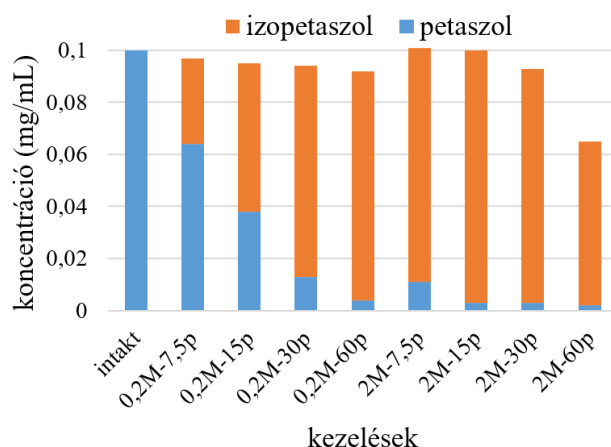
A petaszol vízzel és 0,2 M ammónium-hidroxid oldattal, 100 °C hőmérsékleten, 15 percig történő kezelése hatására a petaszol koncentrációja, a kezeletlen petaszol oldat 0,1 mg/mL koncentrációjához képest jelentősen, 0,013 és 0,009 mg/mL-re csökkent, izopetaszol pedig 0,004 és 0,020 mg/mL koncentrációban keletkezett. A 0,2 M trifluorecetsav (TFE) oldattal való kezelés hatására a petaszol koncentrációja 0,038 mg/mL-re csökkent, izopetaszol pedig 0,057 mg/mL koncentrációban keletkezett. A petaszol és a keletkezett izopetaszol koncentrációjának összege a vízzel és lúggal való kezelés hatására 0,017 és 0,029 mg/mL-re, a savval való kezelés hatására pedig 0,095 mg/mL-re jött ki (22., F.12.A–D ábrák).



22. ábra. Petaszol és izopetaszol koncentrációja az intakt petaszol vízzel, 0,2 M ammónium-hidroxid oldattal (lóg), illetve 0,2 M trifluorecetsav oldattal (sav) 100 °C hőmérsékleten, 15 percig történő kezelése eredményeként.

A petaszol 0,2 M TFE oldattal, 100 °C hőmérsékleten, 7,5, 15, 30 és 60 percig történő kezelése hatására a petaszol koncentrációja, a kezeletlen petaszol oldat koncentrációjához (0,1 mg/mL) képest, az idő előrehaladtával egyre alacsonyabban, míg a keletkezett izopetaszol koncentrációja egyre magasabban alakult. A keletkezett izopetaszol 60 perc elteltével kapott legmagasabb koncentrációja 0,088 mg/mL volt. A petaszol és a keletkezett izopetaszol koncentrációjának összege az idő előrehaladtával 0,097 mg/mL-ről 0,092 mg/mL-re csökkent (23., F.12.E–H ábrák).

A petaszol töményebb, 2,0 M TFE oldattal történő kezelésének hasonló hatása volt, azzal a különbséggel, hogy az izopetaszol legnagyobb koncentrációban (0,097 mg/mL) 15 perc elteltével keletkezett, a petaszol és a keletkezett izopetaszol koncentrációjának összege pedig 60 perc elteltével 0,065 mg/mL-re csökkent (23., F.12.I–L ábrák).



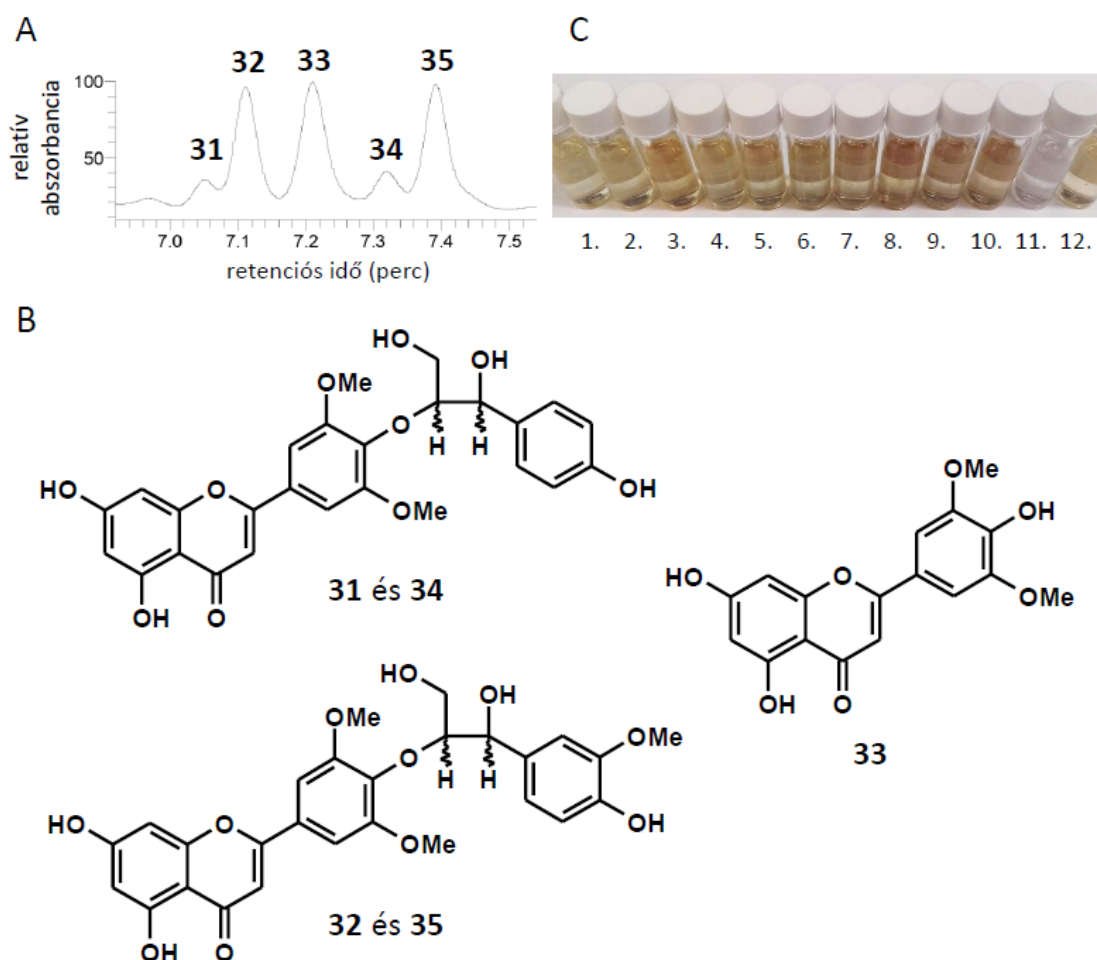
23. ábra. Petaszol és izopetaszol koncentrációja az intakt petaszol 0,2 M és 2,0 M trifluorecetsav oldattal 100 °C hőmérsékleten, 7,5, 15, 30 és 60 percig történő kezelése eredményeként.

4.4.2 Csiperketermesztésre szolgáló komposzt és endofiton gombáinak vegyületei

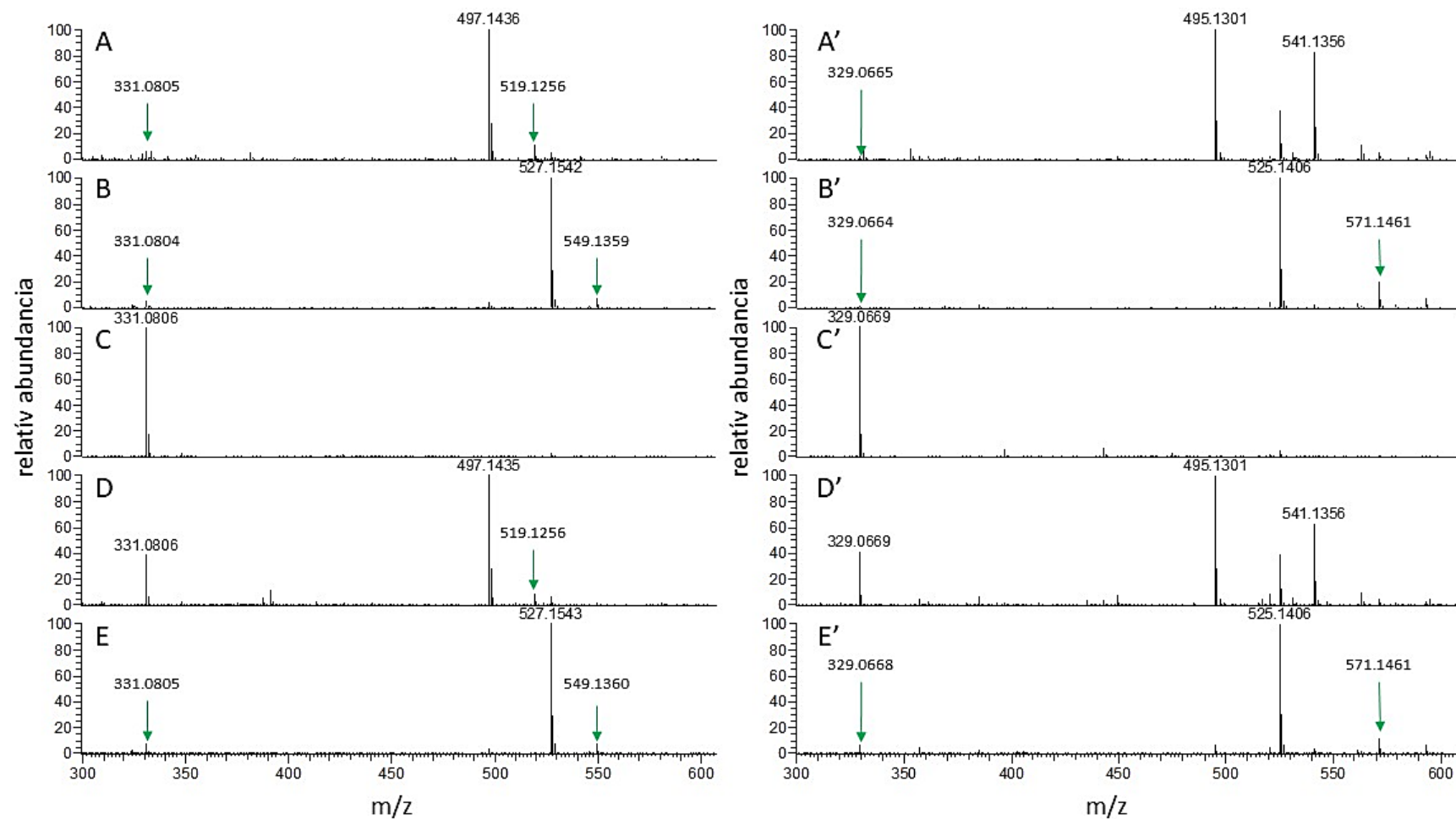
A csiperketermesztésre szolgáló komposzt és növényi alapanyagai metabolikus összetételének meghatározására négy gyártási sor 42 mintáját dolgoztuk fel. A feldolgozott minták magukban foglalják a nyers és technológiai vízben ázott búza- és árpaszalmát, a különböző első, második és harmadik fázisú komposztmintákat, illetve a komposztgyártás során hozzáadott szalmás csirke- és lótrágyát, valamint a szemcsírárt. A négy gyártási sor esetében nem, de alkalmanként a komposztgyártás növényi alapanyagául szolgáló repceszalma, illetve a csirketrágyában jellemzően előforduló napraforgó termésfal egy-egy mintáját is feldolgoztuk (1. táblázat).

A nyers búza- és árpaszalma kivonataiban öt fő összetevőt (**31–35**) detektáltunk (24.A ábra). UV spektrumaik alapján az egyik összetevő (**33**) 270 és 350 nm-en, míg a másik négy 270 és 340 nm-en mutat elnyelési maximumot (F.13.A–E ábrák). Az eltérő UV spektrumú összetevő (**33**) HR-MS spektrumaiban pozitív ionizáció mellett a protonált (m/z 331,08 ($C_{17}H_{15}O_7$)), míg negatív ionizáció mellett a deprotonált (m/z 329,07 ($C_{17}H_{13}O_7$)) molekulák adnak jelet (25.C, C' ábrák, 9. táblázat). Az ezekből számított $C_{17}H_{14}O_7$ összegképlet és a fent bemutatott UV spektrum alapján **33** a tricín (Li és mtsai 2016) (24.B ábra). A négy egyforma UV spektrummal rendelkező összetevő közül kettő-kettő (**31** és **34**, illetve **32** és **35**) azonos HR-MS spektrumokat is mutat (25. ábra). Mind a négy összetevő esetében, pozitív ionizáció mellett a protonált molekulák (**31**, **34**: m/z 497,14 ($C_{26}H_{25}O_{10}$); **32**, **35**: m/z 527,15 ($C_{27}H_{27}O_{11}$)) és a nátrium ionnal képzett adduktok (**31**, **34**: m/z 519,13 ($C_{26}H_{24}O_{10}Na$); **32**, **35**: m/z 549,14 ($C_{27}H_{26}O_{11}Na$)), míg negatív ionizáció mellett a deprotonált molekulák (**31**, **34**: m/z 495,13 ($C_{26}H_{23}O_{10}$); **32**, **35**: m/z 525,14 ($C_{27}H_{25}O_{11}$)) és a formiát ionnal képzett adduktok (**31**, **34**: m/z 541,14

($C_{27}H_{25}O_{12}$); **32**, **35**: m/z 571,15 ($C_{28}H_{27}O_{13}$)) detektálhatók. Ezekből a **31** és **34** összetevőkre a $C_{26}H_{24}O_{10}$, míg a **32** és **35** összetevőkre a $C_{27}H_{26}O_{11}$ összegképlet számítható (9. táblázat). Mind a négy vegyület (**31**, **32**, **34**, és **35**) HR-MS spektrumaiban fragmentumként megtalálhatók a tricin protonált és deprotonált molekulái. Az MS adatok és a fent bemutatott UV spektrum alapján **31** és **34** a tricin-4'-O-(β -hidroxifenilgliceril)-éter, míg **32** és **35** a tricin-4'-O-(β -guajacilgliceril)-éter izomerjei (Li és mtsai 2016) (24.B ábra).



24. ábra. Búzaszalma metil-alkohol oldószerrel készített kivonatának HPLC-UV kromatogramja ($\lambda=250-800$ nm) (A), az azonosított összetevők (**31–35**) szerkezeti képletei (B) és az 5. komposztgyártási sor ezen összetevőket zömmel tartalmazó mintáiból (1–12) készített kivonatok (C). Azonosított összetevők: tricin (**33**), tricin-4'-O-(β -hidroxifenilgliceril)-éter izomerek (**31** és **34**), tricin-4'-O-(β -guajacilgliceril)-éter izomerek (**32** és **35**). Az 5. komposztgyártási sor mintái: nyers búzaszalma (1), technológiai vízben ázott búzaszalma (2), szalmás csirketrágya (3), ázott búzaszalma és csirketrágya keveréke (4), bunkertöltés (5), szalmás lótrágya (6), első átrakás (7), második átrakás (8), kiszedés (9), áttárolás (10), szemcsíra (11), kitárolás (12). Az azonosított vegyületeknek a komposztgyártás előrehaladtával bekövetkező mennyiségi változásait a 10. táblázat mutatja be. Fotó: Berek-Nagy Péter János.



25. ábra. Búza- és árpaszalmában azonosított **31–35** összetevők pozitív (A–E) és negatív ionizáció (A'–E') mellett felvett HR-MS spektrumai: tricin (**33**) (C, C'), tricin-4'-O-(β -hidroxifenilgliceril)-éter izomerek ((**31**) (A, A') és (**34**) (D, D')), tricin-4'-O-(β -guajacilgliceril)-éter izomerek ((**32**) (B, B') és (**35**) (E, E')).

9. táblázat. A komposzt alapanyagául szolgáló búza- és árpaszalma kivonataiban azonosított **31–35** vegyületek, illetve a komposztból izolált *Mycothermus thermophilus* micéliumának kivonatában azonosított **36** vegyület nagyfelbontású tömegspektrometriás (HRMS) adatai.

vegyület sorszáma	vegyület neve	vegyület összegképlete	detektált ion	detektált ion összegképlete	detektált m/z	számított m/z	eltérés (ppm)
31	tricin-4'-O-(β -hidroxifenil-gliceril)-éter 1. izomerje	$C_{26}H_{24}O_{10}$	$[M+H]^+$	$C_{26}H_{25}O_{10}$	497,1436	497,1442	-1,294
			$[M+Na]^+$	$C_{26}H_{24}O_{10}Na$	519,1256	519,1262	-1,075
			$[M-H]^-$	$C_{26}H_{23}O_{10}$	495,1301	495,1286	+3,144
			$[M+COOH]^-$	$C_{27}H_{25}O_{12}$	541,1356	541,1341	+2,897
32	tricin-4'-O-(β -guajacil-gliceril)-éter 1. izomerje	$C_{27}H_{26}O_{11}$	$[M+H]^+$	$C_{27}H_{27}O_{11}$	527,1542	527,1548	-1,040
			$[M+Na]^+$	$C_{27}H_{26}O_{11}Na$	549,1359	549,1367	-1,462
			$[M-H]^-$	$C_{27}H_{25}O_{11}$	525,1406	525,1391	+2,822
			$[M+COOH]^-$	$C_{28}H_{27}O_{13}$	571,1461	571,1446	+2,631
33	tricin	$C_{17}H_{14}O_7$	$[M+H]^+$	$C_{17}H_{15}O_7$	331,0806	331,0812	-1,810
			$[M-H]^-$	$C_{17}H_{13}O_7$	329,0669	329,0656	+3,983
34	tricin-4'-O-(β -hidroxifenil-gliceril)-éter 2. izomerje	$C_{26}H_{24}O_{10}$	$[M+H]^+$	$C_{26}H_{25}O_{10}$	497,1435	497,1442	-1,415
			$[M+Na]^+$	$C_{26}H_{24}O_{10}Na$	519,1256	519,1262	-1,075
			$[M-H]^-$	$C_{26}H_{23}O_{10}$	495,1301	495,1286	+3,023
			$[M+COOH]^-$	$C_{27}H_{25}O_{12}$	541,1356	541,1341	+2,767
35	tricin-4'-O-(β -guajacil-gliceril)-éter 2. izomerje	$C_{27}H_{26}O_{11}$	$[M+H]^+$	$C_{27}H_{27}O_{11}$	527,1543	527,1548	-0,926
			$[M+Na]^+$	$C_{27}H_{26}O_{11}Na$	549,1360	549,1367	-1,352
			$[M-H]^-$	$C_{27}H_{25}O_{11}$	525,1406	525,1391	+2,708
			$[M+COOH]^-$	$C_{28}H_{27}O_{13}$	571,1461	571,1446	+2,631
36	aszterrikinon	$C_{32}H_{30}O_4N_2$	$[M+H]^+$	$C_{32}H_{31}O_4N_2$	507,2275	507,2278	-0,717
			$[M-H]^-$	$C_{32}H_{29}O_4N_2$	505,2134	505,2122	+2,447

A búza- és árpaszalmában azonosított öt összetevőt a szalmás csirke-, illetve lótrágyából is kimutattuk, a nyers szalmában előforduló mennyiségükhöz képest határozottan kisebb, az 5. gyártási sor esetében például kevesebb, mint feleakkora mennyiségben.

A repceszalmában, a napraforgó termésfalában, illetve a cirok- és kölesalapú szemcsírában nem detektáltunk ilyen összetevőket.

A tricín és származékainak mennyisége a komposztgyártás előrehaladtával csökkent, mely csökkenés az analitikai vizsgálatokba bevont, legtöbb különböző mintát felvonulató 5. gyártási sor esetében az alábbiak szerint alakult.

A vegyületek legnagyobb mennyiségben a nyers búzában fordultak elő. A búza technológiai vízben történt áztatása során mennyiségük körülbelül a háromnegyedére, a szalmás csirketrágya hozzáadásának következtében pedig hozzávetőlegesen a harmadára csökkent. A gyártás előrehaladtával az első fázisú komposztban a vegyületek mennyisége lépcsőről lépésre nagyságrendekkel, a nyers búzában tapasztalt kevesebb, mint egy százaléka csökkent, majd ezen a szinten is maradt egészen a gyártási sor végéig (10. táblázat).

10. táblázat. Búzaszalmában azonosított vegyületek mennyiségi változásai a komposztgyártás előrehaladtával.

szalma- és komposztminták ^a	búzaszalmában azonosított vegyületek ^b				
	31	32	33	34	35
	vegyületek mennyisége (%) ^c				
búzaszalma	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
ázott búzaszalma	64,27	74,70	55,86	77,78	77,84
ázott búzaszalma és csirketrágya keveréke	26,74	28,98	42,76	27,59	32,22
bunkertöltés	24,91	25,54	32,69	28,89	30,11
első átrakás	4,34	4,06	9,03	6,09	6,31
második átrakás	0,09	0,03	0,41	0,19	0,16
kiszedés	0,00	0,06	0,71	0,00	0,06
áttárolás	0,00	0,00	0,29	0,00	0,05
kitárolás	0,00	0,06	1,38	0,00	0,04

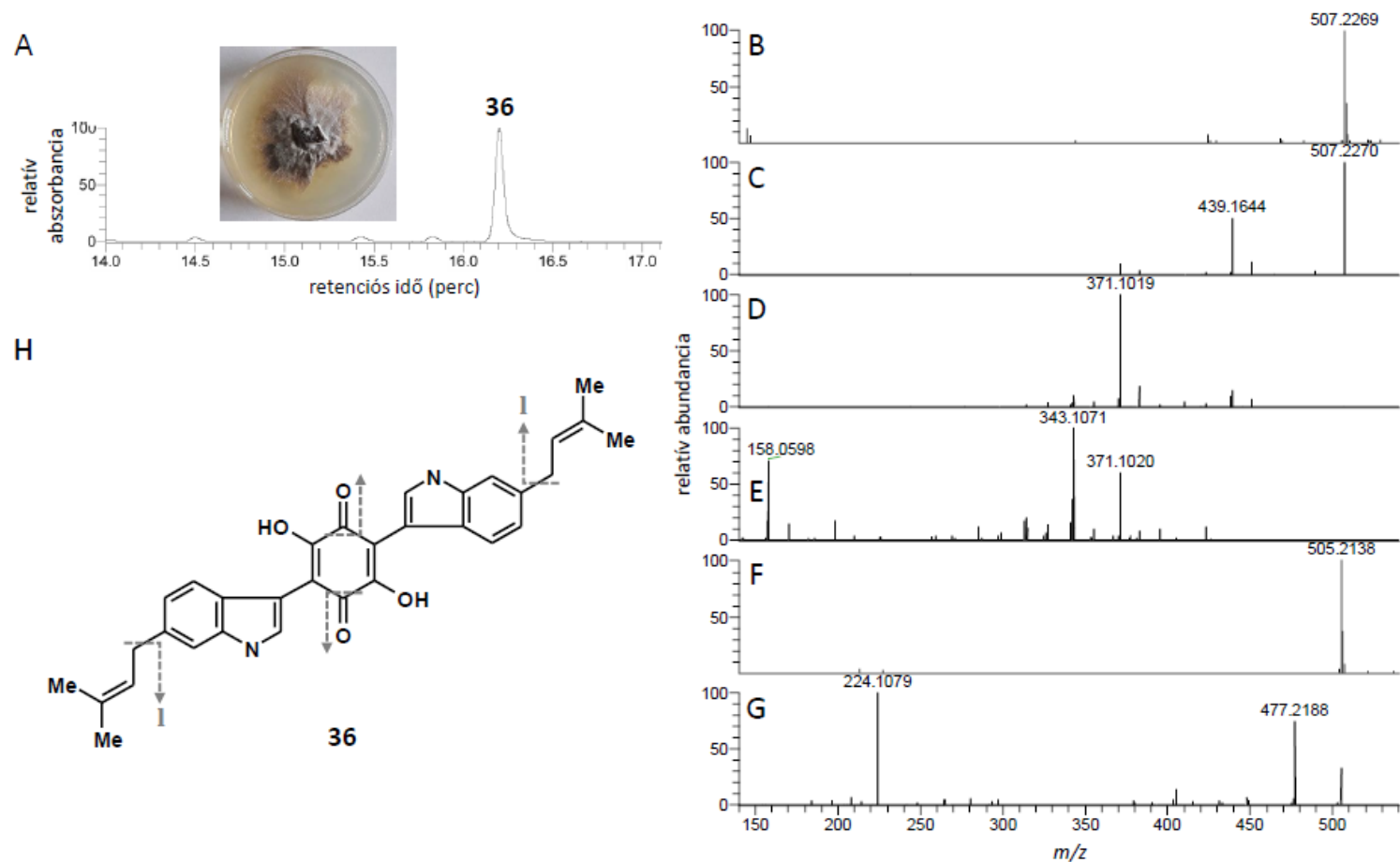
^a A táblázat a vegyületeknek az ötödik gyártási sor szalma- és komposztmintáiban meghatározott mennyiségét mutatja be. A technológiai vízben ázott búzaszalma kék, míg az első, második és harmadik fázis során vett komposztminták rendre zöld, piros és sárga háttérszínnel vannak jelölve.

^b Búzaszalmában azonosított vegyületek: tricin (33), tricin-4'-O-(β -hidroxifenilgliceril)-éter izomerek (31, 34) és tricin-4'-O-(β -guajacilgliceril)-éter izomerek (32, 35).

^c A vegyületek mennyiségét a komposztgyártás során előforduló legnagyobb mennyiségükhöz (100%) viszonyítva, %-ban kifejezve állapítottuk meg, protonált ionjaik intenzitását alapul véve.

Tekintettel a *M. thermophilus* gomba második fázisú komposztban tapasztalt gyakori előfordulására, meghatároztuk e faj három gyártási sorból származó egy-egy izolátumának metabolikus összetételét. Az izolátumokat celofánnal borított táptalajon tenyésztettük, a kivonatokat a celofánról leválasztott, gyakran lilás micéliumokból készítettük. A kivonatokban egy fő összetevőt (36) detektáltunk (26.A ábra), mely 282 és 472 nm-en mutat elnyelési maximumot (F.13.F ábra). HR-MS spektrumaiban pozitív ionizáció mellett a protonált (m/z 507,23 ($C_{32}H_{31}O_4N_2$)), míg negatív ionizáció mellett a deprotonált molekulák (m/z 505,21 ($C_{32}H_{29}O_4N_2$)) adnak jelet (26.B, F ábrák). Ezekből a $C_{32}H_{30}O_4N_2$ összegképlet számítható (9. táblázat).

Az összetevőt 15, 30 és 45 eV ütközési energiákkal, pozitív és negatív ionizáció mellett egyaránt fragmentáltuk. Pozitív ionizáció során, 15 eV hatására m/z 439,16, míg 30 eV hatására m/z 371,10 fragmentum ionok keletkeznek (26.C, D ábrák). Az előbbi, $C_{27}H_{22}O_4N_2$ összegképletű fragmentum a kiindulási vegyületből, míg az utóbbi, $C_{22}H_{14}O_4N_2$ összegképletű fragmentum az előbbi fragmentumból, egy-egy 1 molekula-részlet (C_5H_8) kilépésével képződhet (26.H ábra). 45 eV hatására m/z 343,11 és m/z 158,06 fragmentum ionok egyaránt képződnek (26.E ábra). Az előbbi, $C_{21}H_{14}O_3N_2$ összegképletű fragmentum a már korábban keletkezett, $C_{22}H_{14}O_4N_2$ összegképletű fragmentumból szén-monoxid kilépésével képződhet, míg az utóbbi, $C_{10}H_7ON$ összegképletű fragmentum egy további szén-monoxid kilépésével, illetve az azt leadó fragmentum kettőtörésével keletkezhet (26.H ábra).



26. ábra. *Mycothermus thermophilus* izolátum (fotó) micéliumából metil-alkohol oldószerrel készített kivonat HPLC-UV kromatogramja ($\lambda=230\text{--}600\text{ nm}$) (A), az aszterrikon (**36**) összetevő pozitív (B–E) és negatív (F, G) ionizáció mellett felvett HR-MS (B, F) és HR-MS/MS (C–E, G) spektrumai, valamint szerkezeti képlete és feltételezett fragmentálódása (H). Ütközési energiák: 15 eV (C), 30 eV (D), 45 eV (E, G). Fotó: Berek-Nagy Péter János.

Negatív ionizáció során látványosan csak 45 eV hatására fragmentálódik a vegyület, m/z 477,22 és m/z 224,11 fragmentum ionok egyaránt keletkeznek (26.G ábra). Az előbbi, $C_{31}H_{30}O_3N_2$ összegképletű fragmentum a kiindulási vegyületből szén-monoxid kilépésével, míg az utóbbi, $C_{15}H_{15}ON$ összegképletű fragmentum egy további szén-monoxid kilépésével, illetve az azt leadó fragmentum kettétörésével keletkezhet (26.H ábra).

A fent bemutatott UV és MS adatok alapján **36** az aszterrikinon (Mocek és mtsai 1996) (26.H ábra).

A második fázisú komposztból jellemzően tömegesen izolálható *M. thermophilus* fent azonosított anyagcseretermékét nem detektáltuk az ebből a célból külön vizsgált, áttárolás eredetű komposztmintákban.

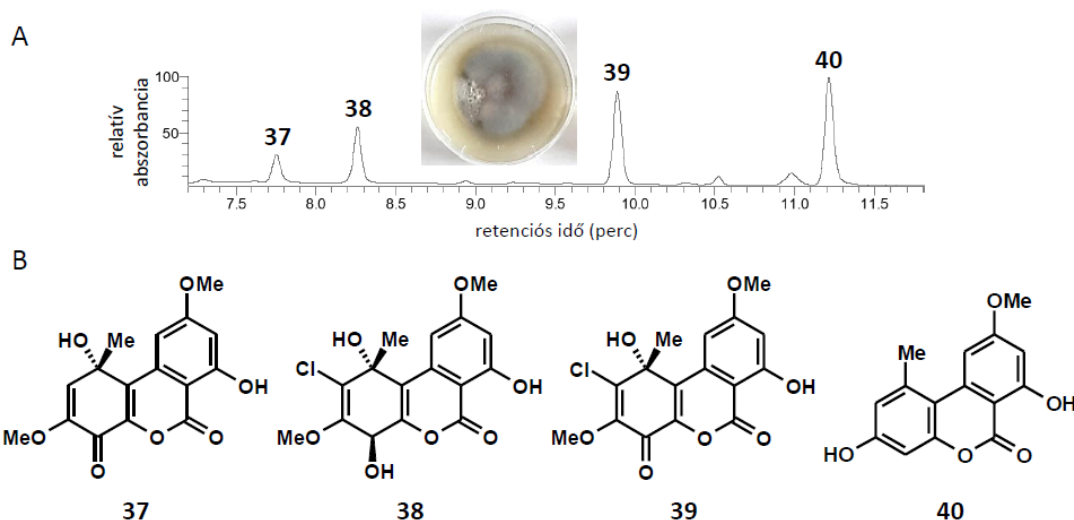
4.4.3 Gyógynövények endofiton gombáinak vegyületei

A festő buzér és tövises iglice gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből készített kivonatokban azonosítottuk e növények szakirodalom alapján jellemző, fő anyagcseretermékeit (Boldizsár és mtsai 2006, Gampe és mtsai 2016). A tarackbúza gyöktörzsének kivonatában az UV kromatogram alapján számottevő mennyiségben előforduló összetevőt nem detektáltunk.

A festő buzér megvastagodott gyökereiből izolált endofiton gombák közül két *Acrocalymma*, négy *Cadophora* és hat *Leptodophora* izolátum metabolikus összetételét határoztuk meg. Így jártunk el a tövises iglice főgyökeréből és a tarackbúza gyöktörzséből származó izolátumok esetében is, egy *Cadophora*, az egyetlen *Penicillium* és a két *Diaporthe* izolátum kivételével.

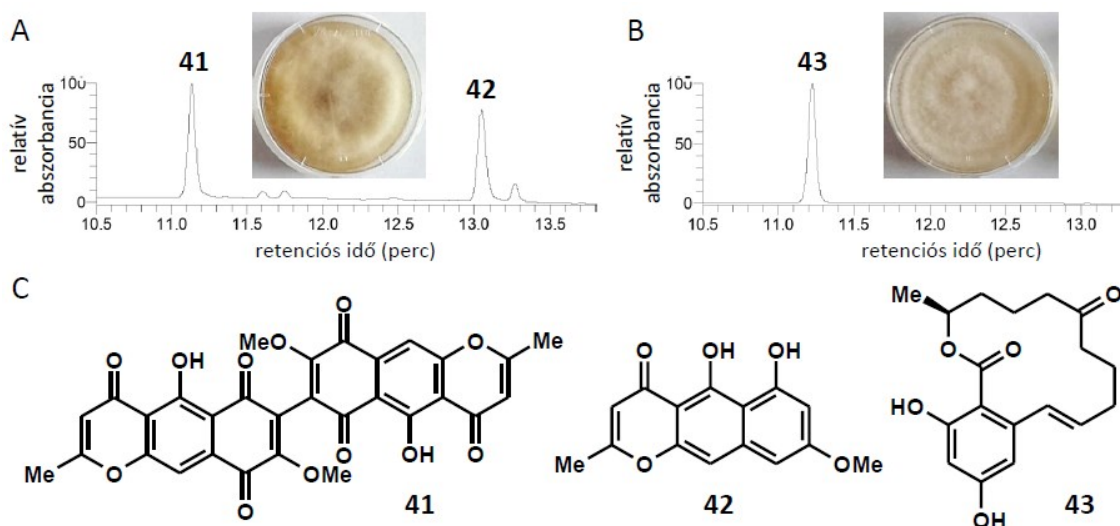
A gyógynövényekből izolált endofiton gombák kivonataiban számos, az UV kromatogramok alapján jelentős mértékben felhalmozódó összetevőt detektáltunk. Ezen összetevők azonosítása az alábbiakban kerül bemutatásra.

A mindhárom gyógynövényből azonosított *Acrocalymma vagum* izolátumok kivonataiban négy fő összetevőt (**37–40**) detektáltunk (27.A ábra). UV spektrumaik alapján **37** és **39** egyaránt 236, 266 és 352 nm-en, **38** 246 és 330 nm-en, **40** pedig 256 és 338 nm-en mutat elnyelési maximumot (F.14. ábra). HR-MS spektrumaik alapján **38** és **39** klórtartalmú vegyületek (F.15.B, B', C, C' ábrák, 11. táblázat). UV és MS adataik alapján **37** a penicilliumolid B, **38** a rizopiknin A, **39** a TMC-264, **40** pedig az alternariol-9-metil-éter lehetnek (Lai és mtsai 2016) (27.B ábra).



27. ábra. Tarackbúzából származó *Acrocalymma vagum* izolátum (fotó) metil-alkohol oldószerrel készített kivonatának HPLC-UV kromatogramja ($\lambda=230\text{--}600\text{ nm}$) (A), valamint az azonosított összetevők (penicilliumolide B (**37**), rizopiknin A (**38**), TMC-264 (**39**), alternariol-9-metil-éter (**40**)) szerkezeti képletei (B). Fotó: Berek-Nagy Péter János.

A tarackbúzából azonosított számos *Fusarium* izolátum egyikének kivonataiban két fő összetevőt (**41**, **42**) detektáltunk (28.A ábra). UV spektrumaik alapján **41** 244, 268 és 384 nm-en, míg **42** 278 és 404 nm-en mutat elnyelési maximumot (F.16.A, B ábrák). Egy másik *Fusarium* izolátum kivonataiban egy fő összetevőt (**43**) detektáltunk (28.B ábra), mely 236, 274 és 314 nm-en rendelkezik elnyelési maximummal (F.16.C ábra). Ezen UV, valamint HR-MS adataik (F.17. ábra, 11. táblázat) alapján, **41** az aurofuzarin, **42** a rubrofuzarin, míg **43** a zearalenon lehetnek (Cambaza 2018, Yu és mtsai 2022) (28.C ábra).



28. ábra. Tarackbúzából származó *Fusarium* izolátumok (fotók) metil-alkohol oldószerrel készített kivonatainak HPLC-UV kromatogramjai ($\lambda=230\text{--}600\text{ nm}$) (A, B), valamint az azonosított összetevők (aurofuzarin (**41**), rubrofuzarin (**42**), zearalenon (**43**)) szerkezeti képletei (C). Fotók: Berek-Nagy Péter János.

11. táblázat. A vizsgált gyógynövények (festő buzér, tövises iglice, tarackbúza) gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből izolált endofiton gombák tenyészeiben azonosított vegyületek (**37–47**) nagyfelbontású tömegspektrometriás (HRMS) adatai.

vegyület sorszáma	vegyület neve	vegyület összegképlete	detektált ion	detektált ion összegképlete	detektált m/z	számított m/z	eltérés (ppm)	
37	penicilliumolid B	$C_{16}H_{14}O_7$	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{15}O_7$	319,0802	319,0812	−3,320	
			$[M+NH_4]^+$	$C_{16}H_{18}O_7N$	336,1066	336,1078	−3,595	
			$[M-H]^-$	$C_{16}H_{13}O_7$	317,0657	317,0656	+0,476	
			$[M+COOH]^-$	$C_{17}H_{15}O_9$	363,0713	363,0711	+0,720	
38	rizopiknin A	$C_{16}H_{15}O_7Cl$	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{16}O_7Cl$	355,0567	355,0579	−3,315	
			$[M+2+H]^+$	$C_{16}H_{16}O_7^{37}Cl$	357,0535	357,0550	−4,080	
			$[M-H_2O+H]^+$	$C_{16}H_{14}O_6Cl$	337,0462	337,0473	−3,300	
			$[M+2-H_2O+H]^+$	$C_{16}H_{14}O_6^{37}Cl$	339,0433	339,0444	−3,310	
			$[M-H]^-$	$C_{16}H_{14}O_7Cl$	353,0425	353,0423	+0,632	
			$[M+2-H]^-$	$C_{16}H_{14}O_7^{37}Cl$	355,0394	355,0393	+0,178	
			$[M-H_2O-H]^-$	$C_{16}H_{12}O_6Cl$	335,0320	335,0317	+1,038	
			$[M+2-H_2O-H]^-$	$C_{16}H_{12}O_6^{37}Cl$	337,0290	337,0287	+0,646	
			$[M+COOH]^-$	$C_{17}H_{16}O_9Cl$	399,0477	399,0477	−0,015	
			$[M+2+COOH]^-$	$C_{17}H_{16}O_9^{37}Cl$	401,0444	401,0448	−1,013	
39	TMC-264	$C_{16}H_{13}O_7Cl$	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{14}O_7Cl$	353,0411	353,0423	−3,249	
			$[M+2+H]^+$	$C_{16}H_{14}O_7^{37}Cl$	355,0379	355,0393	−3,962	
			$[M+NH_4]^+$	$C_{16}H_{17}O_7NCl$	370,0676	370,0688	−3,178	
			$[M+2+NH_4]^+$	$C_{16}H_{17}O_7N^{37}Cl$	372,0644	372,0659	−4,021	
			$[M-H]^-$	$C_{16}H_{12}O_7Cl$	351,0266	351,0266	+0,094	
			$[M+2-H]^-$	$C_{16}H_{12}O_7^{37}Cl$	353,0236	353,0237	−0,274	
			$[M+COOH]^-$	$C_{17}H_{14}O_9Cl$	397,0318	397,0321	−0,645	
			$[M+2+COOH]^-$	$C_{17}H_{14}O_9^{37}Cl$	399,0285	399,0291	−1,669	
40	alternariol-9-metil-éter	$C_{15}H_{12}O_5$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{13}O_5$	273,0747	273,0757	−4,028	
			$[M-H]^-$	$C_{15}H_{11}O_5$	271,0604	271,0601	+1,070	
41	aurofuzarin	$C_{30}H_{18}O_{12}$	$[M+H]^+$	$C_{30}H_{19}O_{12}$	571,0859	571,0871	−2,035	
			$[M-H]^-$	$C_{30}H_{17}O_{12}$	569,0709	569,0715	−0,935	
42	rubrofuzarin	$C_{15}H_{12}O_5$	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{13}O_5$	273,0749	273,0757	−3,149	
			$[M-H]^-$	$C_{15}H_{11}O_5$	271,0605	271,0601	+1,550	
43	zearalenon	$C_{18}H_{22}O_5$	$[M+H]^+$	$C_{18}H_{23}O_5$	319,1529	319,1540	−3,479	
			$[M-H_2O+H]^+$	$C_{18}H_{21}O_4$	301,1424	301,1434	−3,339	
			$[M-H]^-$	$C_{18}H_{21}O_5$	317,1385	317,1384	+0,535	
44	1. szekalonsav izomer	$C_{32}H_{30}O_{14}$	$[M+H]^+$	$C_{32}H_{31}O_{14}$	639,1690	639,1708	−2,804	
			$[M+NH_4]^+$	$C_{32}H_{34}O_{14}N$	656,1950	656,1974	−3,598	
			$[M-H]^-$	$C_{32}H_{29}O_{14}$	637,1548	637,1552	−0,631	
45	2. szekalonsav izomer		$[M+H]^+$	$C_{32}H_{31}O_{14}$	639,1691	639,1708	−2,710	
			$[M-H]^-$	$C_{32}H_{29}O_{14}$	637,1548	637,1552	−0,646	
46	3. szekalonsav izomer		$[M+H]^+$	$C_{32}H_{31}O_{14}$	639,1690	639,1708	−2,819	
			$[M-H]^-$	$C_{32}H_{29}O_{14}$	637,1549	637,1552	−0,458	
47	4. szekalonsav izomer		$[M+H]^+$	$C_{32}H_{31}O_{14}$	639,1689	639,1708	−3,101	
			$[M+Na]^+$	$C_{32}H_{30}O_{14}Na$	661,1503	661,1528	−3,746	
			$[M-H]^-$	$C_{32}H_{29}O_{14}$	637,1548	637,1552	−0,568	

A szintén tarackbúzából azonosított *Setophoma terrestris* izolátumok kivonataiban négy azonos UV spektrumú összetevőt (**44–47**) detektáltunk, melyek egyaránt 338 nm-en mutatnak elnyelési maximumot (29.A, F.18. ábrák). HR-MS spektrumaik alapján egymás izomerjei (F.19. ábra, 11. táblázat). Pozitív ionizáció mellett hasonlóan fragmentálódnak. A protonált molekulák (m/z 639,17 ($C_{32}H_{31}O_{14}$)) tandem tömegspektrumaiban detektálható $[M+H-m]^+$ (m/z 561,14 ($C_{30}H_{25}O_{11}$)), $[M+H-m-n]^+$ (m/z 455,10 ($C_{23}H_{19}O_{10}$)), $[M+H-m-n-m']^+$ (m/z 377,06 ($C_{21}H_{13}O_7$)) és $[M+H-m-n-m'-n']^+$ (m/z 271,02 ($C_{14}H_7O_6$)) fragmentum ionok egyes ligandumok leválásával, illetve az alapváz feldarabolódásával keletkezhetnek (29.B–F ábrák). UV és MS adataik alapján a **44–47** összetevők szekalonsav típusú vegyületek lehetnek (El-Elmat és mtsai 2015, Lünne és mtsai 2021) (29.F ábra).

A festő buzér és tövises iglice gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből származó, különböző leszármazási vonalakat reprezentáló *Cadophora* és *Leptodophora* izolátumok kivonataiban detektáltunk egy 262 és 492 nm-en elnyelési maximumot mutató, HR-MS spektrumaik alapján $C_{20}H_{10}O_5$ összegképlettel rendelkező összetevőt. Ennek a vegyületnek az azonosítása folyamatban van.

A gyógynövényekből származó endofiton gombák kivonataiban azonosított vegyületek közül az *A. vagum* izolátumok termelte penicilliumolid B (**37**) összetevőt, illetve a *S. terrestris* izolátumok termelte szekalonsav típusú összetevők közül hármat (**44, 46, 47**) egy-egy tarackbúza, míg az egyik *Fusarium* izolátum tenyészetében felhalmozódott zearalenon (**43**) összetevőt mind a négy tarackbúza kivonatában sikerült kimutatnunk, a vegyületek retenciós ideje és összegképlete alapján (30. ábra, 12. táblázat).

12. táblázat. Az endofiton gombákban és gazdaszervezetükben egyaránt azonosított vegyületek mennyiségi viszonyai.

minta	endofiton gombákban és gazdaszervezetükben egyaránt azonosított vegyületek				
	37 penicilliumolid B	43 zearalenon	44 1. szekalonsav izomer	46 3. szekalonsav izomer	47 4. szekalonsav izomer
	vegyületek szelektív ionintenzitása (AU) ^a				
gombatenyészet ^b	405.000.000	2.140.000.000	498.000.000	477.000.000	181.000.000
gyöktörzs-1	-	49.300	-	-	-
gyöktörzs-2	65.200	134.000	-	-	-
gyöktörzs-3	-	32.700	-	-	-
gyöktörzs-4	-	138.000	536.000	248.000	123.000

^a Ionintenzitások (arbitrary unit) az alábbi tömegtartományokban és ionizációs módokban:

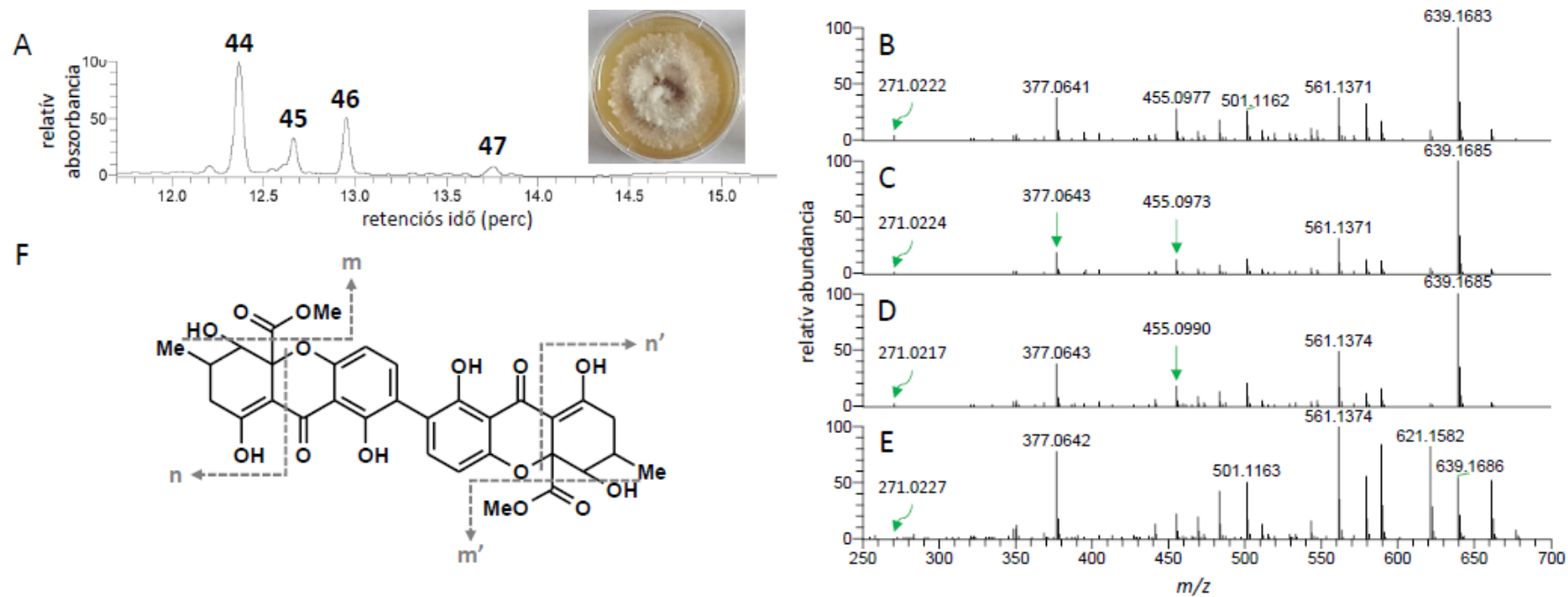
penicilliumolid B: 319,07–319,09, pozitív ionizáció;

zearalenon: 317,13–317,15, negatív ionizáció;

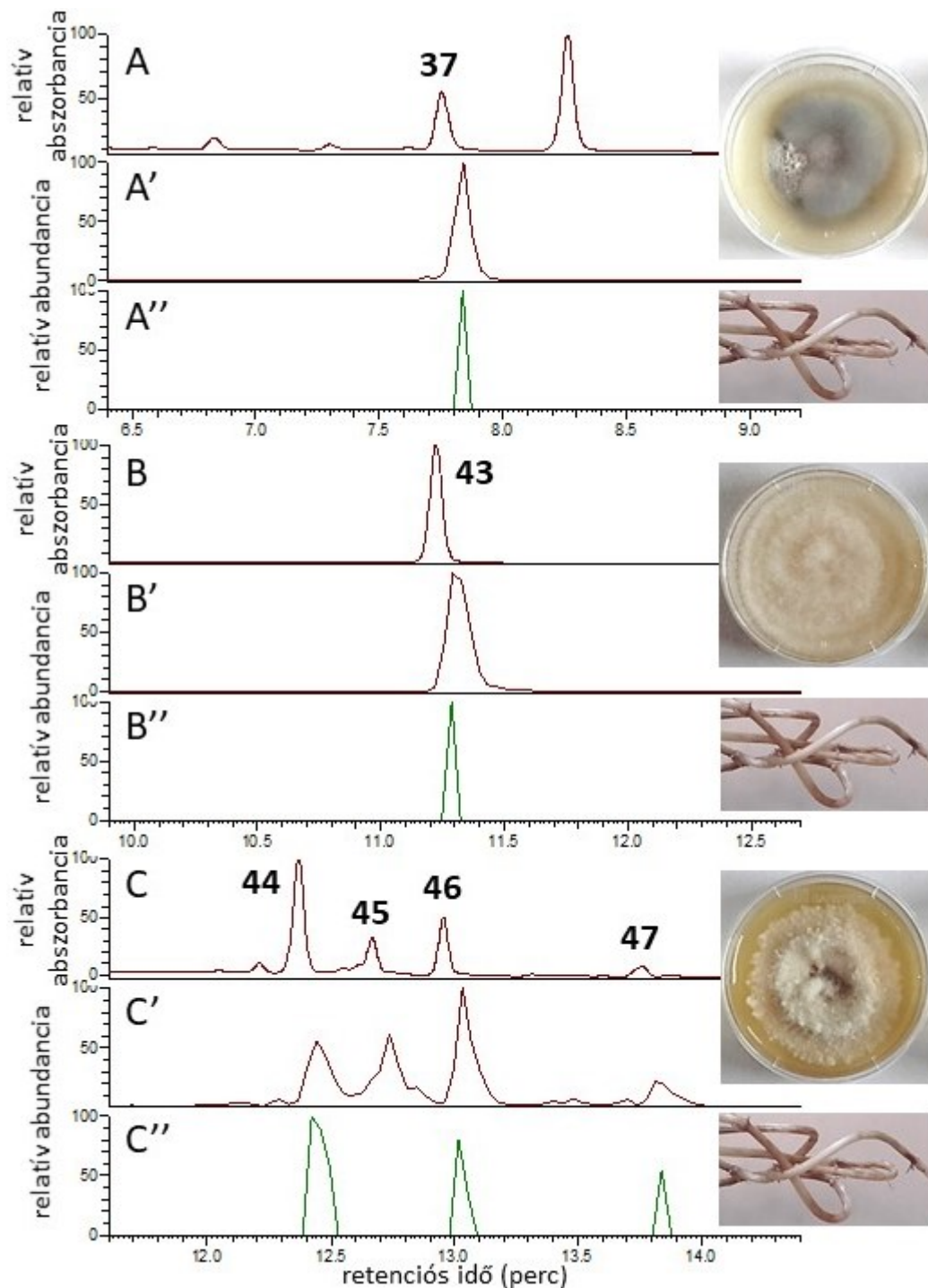
szekalonsav izomerek: 639,16–639,18, pozitív ionizáció.

^b Tarackbúzából származó endofiton gombák a vegyületet legnagyobb mennyiségben tartalmazó tenyészet.

gyöktörzs-1–gyöktörzs-4: A négy vizsgált tarackbúza egyed gyöktörzse.



29. ábra. Tarackbúzából származó *Setophoma terrestris* izolátum (fotó) metil-alkohol oldószerrel készített kivonatának HPLC-UV kromatogramja ($\lambda=230\text{--}600\text{ nm}$) (**A**), valamint a szekalonsav izomerekként azonosított **44–47** összetevők pozitív ionizáció mellett felvett HR-MS/MS spektrumai (**B–E**), általános szerkezeti képletük és feltételezett fragmentálódásuk (**F**). Ütközési energia: 30 eV.
Fotó: Berek-Nagy Péter János.



30. ábra. Tarackbúza gyöktörzséből származó egy-egy *Acrocalymma vagum* (A), *Fusarium* sp. (B) és *Setophoma terrestris* (C) izolátum (fotók) metil-alkohol oldószerrel készített kivonatának HPLC-UV kromatogramjai ($\lambda=230\text{--}600\text{ nm}$) (A–C), valamint e kivonatok (A'–C') és egy-egy tarackbúza gyöktörzs (fotók) kivonatának (A''–C'') a 37 (A', A''), 43 (B', B'') és 44–47 (C', C'') összetevőkre szelektív HPLC-MS kromatogramjai (A'–C', A''–C'') (tömegtartományok és ionizációs módok: penicilliumolid B (37): 319,07–319,09, pozitív ionizáció; zearalenon (43): 317,13–317,15, negatív ionizáció; szekalonsav izomerek (44–47): 639,16–639,18, pozitív ionizáció).

Fotók: Berek-Nagy Péter János.

4.5 Vegyületek *in vitro* biológiai aktivitása

4.5.1 Növényre gyakorolt hatás

4.5.1.1 Salátamagvak csírázására gyakorolt hatás

A *F. fulophazii* fajból azonosított **2**, **5** és **8** összetevők salátamagvak csírázására, a csíranövények növekedésére gyakorolt hatását teszteltük. A vegyületek egyik koncentrációban sem befolyásolták a magvak csírázását, a csíranövények gyökér-, illetve a hipokotilhosszát (F.20. ábra).

4.5.1.2 Békalencse növekedésére gyakorolt hatás

A *F. fulophazii* fajból azonosított **2**, **5** és **8**, továbbá a *Darksidea* nemzetségből azonosított **13–16**, **18–27**, **29** és **30** összetevők békalencse növekedésére gyakorolt hatását teszteltük. Összesen 10, a *Darksidea* nemzetségből azonosított vegyület (**15**, **19**, **20**, **22–25**, **27**, **29**, **30**) mutatott szignifikáns, növekedésgátló hatást (F.21. ábra, 13. táblázat).

13. táblázat. A *Darksidea* izolátumok tenyészeiben azonosított vegyületek békalencse növekedését gátló hatása.

vegyületek ^a		békalencse leveleinek összterületét csökkentő legkisebb koncentráció (μM)	békalencse leveleinek számát csökkentő legkisebb koncentráció (μM)
13	PF1092C C-2 epimerje	>150	>150
14	PF1092C	>150	>150
15	petaszol	10	10
16	izopetaszol	>150	>150
18	3-epi-petaszol	>150	>150
19	petaszol oxidált származéka	150	>150
20	aszkomikon B	50	100
21	monocerin	>150	>150
22	6-deoxibosztrikoidin	10	50
23	epikokkamid A	50	150
24	F2928-1	150	150
25	fomopszidin	50	100
26	aszkomikon A	>150	>150
27	epikokkamid A uronsavas származéka	50	50
29	epikokkamid D	50	>150
30	epikokkamid D uronsavas származéka	50	100

^a A *Darksidea* izolátumok tenyészeiben azonosított vegyületek (**13–30**) közül az izopetaszol oxidált származékát (**17**) és az F2928-2 (**28**) vegyületet, azok elégtelen mennyisége miatt, nem teszteltük.

A békalencse leveleinek összterületét szignifikánsan csökkentő legkisebb koncentráció a 6-deoxibosztrikoidin (**22**) és a petaszol (**15**) esetében 10 μM, az aszkomikon B (**20**), az epikokkamid A és D (**23**, **29**), valamint uronsavas származékaik (**27**, **30**), illetve a fomopszidin (**25**) esetében 50 μM, az F2928-1 (**24**) és a petaszol oxidált származéka (**19**) esetében pedig 150 μM (F.21. ábra, 13. táblázat).

A békalencse leveleinek számát szignifikánsan csökkentő legkisebb koncentráció a petaszol (15) esetében 10 µM, a 6-deoxibosztrikoidin (22) és az epikokkamid A uronsavas származéka (27) esetében 50 µM, az aszkomikon B (20), az epikokkamid D uronsavas származéka (30) és a fomopszidin (25) esetében 100 µM, az epikokkamid A (23) és az F2928-1 (24) esetében pedig 150 µM (F.21. ábra, 13. táblázat).

A *Darksidea* nemzetségből azonosított 13, 14, 16, 18, 21 és 26, továbbá a *F. fulophazii* fajból azonosított 2, 5 és 8 összetevők egyik koncentrációban sem befolyásolták a békalencse növekedését (F.21., F.22. ábrák, 13. táblázat). A szintén tisztán izolált 17 és 28 összetevőket, szükséges mennyiségük hiányában nem teszteltük.

4.5.2 Citosztatikus hatás

A *F. fulophazii* fajból azonosított 2, 5 és 8 vegyületek *in vitro* citosztatikus hatását teszteltük 12 daganatos és egy normál (egészséges) sejtvonalon, az MTT módszer alkalmazásával.

A vermelhotin (5) mérsékelten, ugyanakkor szignifikánsan gátolta mind a 12 daganatos sejtvonalat (IC₅₀: 9,4–37,0 µM), míg az egészséges sejtekre nem volt hatással. A hidroxivermelhotin (2) és a flavoklorin A (8) nem bizonyultak hatásosnak egyik sejtvonallal szemben sem (14. táblázat).

14. táblázat. A *Flavomyces fulophazii* izolátumok tenyésztéseiben azonosított 11-hidroxi-vermelhotin, vermelhotin és flavoklorin A vegyületek antiproliferatív aktivitása.

sejtvonalak	vegyületek antiproliferatív aktivitása (IC ₅₀ , µM)				
	2	5	8	referencia vegyületek ^a	
	11-hidroxi-vermelhotin	vermelhotin	flavoklorin A	Dau	Sal
A2058	>100	12,1	67,9	0,3 ¹	n. a.
A431	>100	19,9	>100	0,7	n. a.
EBC-1	>100	20,0	>100	1,2	n. a.
H838	>100	22,1	>100	10,2	n. a.
HEK-293	>100	21,6	>100	n. a.	n. a.
HepG2	>100	10,1	>100	1,2 ²	5,8 ³
HL-60	>100	9,4	>100	0,02 ⁴	n. a.
HT-29	>100	31,4	>100	0,2 ⁵	n. a.
LCLC-103H	>100	37,0	>100	8,6	n. a.
MonoMac-6	>100	17,1	>100	0,6	2,2 ³
SH-SY5Y	>100	12,9	>100	0,7	n. a.
U87	>100	28,6	>100	0,4 ²	0,8
VERO E6	>100	>100	>100	n. a.	n. a.

¹⁻⁵ Irodalmi adatok (¹ Lajkó és mtsai 2018, ² Kiss és mtsai 2019, ³ Baranyai és mtsai 2017, ⁴ Orbán és mtsai 2011, ⁵ Tripodi és mtsai 2020).

^a Pozitív kontrollként szolgáló vegyületek: Dau (daunomicin) és Sal (5-kloro-2-hidroxi-N-[4-(trifluorometil)fenil]benzamid (szalicilanolid származék) a HepG2, MonoMac-6 és U87 sejtvonalakkal szemben). n. a.: nincs adat

Alkalmazott sejtvonalak: A2058 (humán, melanóma), A431 (humán, epidermoid karcinóma), EBC-1 (humán, nem-kissejtes tüdő karcinóma), H838 (humán, tüdő adenokarcinóma), HEK-293 (humán, embrionális

vese), HepG2 (humán, hepatocelluláris karcinóma), HL-60 (humán, promielocitikus leukémia), HT-29 (humán, kolorektális adenokarcinóma), LCLC-103H (humán, nagysejtes tüdő karcinóma), MonoMac-6 (humán, monocitikus leukémia), SH-SY5Y (humán, neuroblasztóma), U87 (humán, glioblasztóma) és VERO E6 (*Cercopithecus aethiops*, nem tumor eredetű, vese, epiteliális sejtek). Berek-Nagy és mtsai (2021) által publikált táblázat módosított változata.

4.5.3 Antibakteriális hatás

A *Darksidea* nemzetségből azonosított 18 összetevő (**13–30**) antibakteriális hatását teszteltük, melyek közül két összetevő gátolta a *Staphylococcus aureus* MRSA és MSSA baktériumtörzseket. Az aszkomikon A (**26**) minimális gátló koncentrációja (MIC) 25 μM az MRSA és 100 μM az MSSA törzsszel szemben, míg a 6-deoxibosztrikoidin (**22**) vegyületé 100 μM mindkét törzsszel szemben. E két vegyület egyik koncentrációban sem gátolta az *Escherichia coli* és *Pseudomonas aeruginosa* törzseket, illetve a további 16 vegyület sem gátolta a felhasznált baktériumtörzsek egyikét sem.

5. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

5.1 Sötét szeptált endofiton gombák és vegyületeik

5.1.1 *Flavomyces fulophazii* izolátumok

5.1.1.1 *Flavomyces fulophazii* izolátumok azonosítása

A kutatócsoportunk által két hazai izolátum alapján leírt *F. fulophazii* (*F. fueloephazae* (Yang és mtsai 2022)) (Knapp és mtsai 2015) további nyolc izolátumát azonosítottuk hazánkban gyűjtött *Festuca vaginata*, hét izolátumát pedig Mongóliában gyűjtött *Stipa krylovii* pázsitfűfélék gyökereiből (Knapp és mtsai 2019, Berek-Nagy és mtsai 2021) (F.2. táblázat). Ezáltal elsőként igazoltuk e korábban csak Magyarországról, *F. vaginata* gyökereiből ismert faj előfordulását Mongóliában, valamint *S. krylovii* gyökereiben. Az így rendelkezésünkre álló, összesen 17, azonos ITS szekvenciájú izolátum némelyikének bevonásával végzett filogenetikai elemzés alapján a *F. fulophazii* a Pleosporales rend Massarineae alrendjének Periconiaceae családjába tartozik (Berek-Nagy és mtsai 2021) (3. ábra), ami összhangban van a korábbi és frissebb filogenetikai elemzések eredményeivel (Knapp és mtsai 2015, Tanaka és mtsai 2015, Yang és mtsai 2022). A Periconiaceae családot elsősorban szaprotróf, továbbá endofiton és patogén gombák alkotják, köztük a pázsitfűfélék gyökereit világszerte kolonizáló *P. macrospinosus* endofiton gomba. A Periconiaceae családba a monotipikus, azaz egy-egy faj reprezentálta *Bambusistroma*, *Flavomyces*, *Noosia* és *Sporidesmium*, illetve a számos fajt számláló *Periconia* nemzetségek tartoznak. Ezek közül a monotipikus nemzetségek a filogenetikai elemzések során rendszerint beékelődnek a *Periconia* nemzetség különböző képviselői közé (Yang és mtsai 2022). Ez történt az általunk felhasznált, a *Flavomyces* és *Noosia* nemzetségeket reprezentáló szekvenciákkal is (Berek-Nagy és mtsai 2021) (3. ábra).

5.1.1.2 *Flavomyces fulophazii* izolátumok vegyületei

A *F. fulophazii* endofiton gomba másodlagos anyagcseretermékeit elsőként azonosítottuk. A rendelkezésünkre álló 17 izolátum kivonatainak vizsgálata során 12 összetevőt (1–12) azonosítottunk (10., 11. ábrák, 7. táblázat), 11 közülük új, természetes vegyületnek bizonyult (Berek-Nagy és mtsai 2021).

Az izolátumok kivonataiban egy fő összetevőt (5) detektáltunk (10.A ábra), melyet a vermelhotin (Hosoe és mtsai 2006) (10.F ábra), tetrámsav típusú vegyületként azonosítottunk, az irodalmi adatokkal (Leyte-Lugo és mtsai 2012) összhangban az *E*- és *Z*-vermelhotin egyensúlyi keverékeként izoláltunk (Berek-Nagy és mtsai 2021). A tetrámsav

típusú vegyületek baktériumok és gombák termelte, poliketid szintáz és nem-riboszomális peptid szintetáz enzimek által felépített anyagcseretermékek. Az alapvázukhoz (pirrolidin-2,4-dion) kapcsolódó funkciós csoportok sokféleségéből adódóan változatos szerkezetűek és különböző hatásúak (Mo és mtsai 2014).

A vermelhotin egy ritka előfordulású tetrámsav származék, termelődését a gombák körében, mindössze négy izolátum esetében mutatták ki (Hosoe és mtsai 2006, Kasettrathat és mtsai 2008, Leyte-Lugo és mtsai 2012, Kuhnert és mtsai 2014). A négy izolátumból hármat azonosítottak, egyet a Xylariales rendbe tartozó *Hypoxylon lechatii* (Kuhnert és mtsai 2014), kettőt pedig a Pleosporales rend képviselőiként (Kasettrathat és mtsai 2008, Leyte-Lugo és mtsai 2012). Utóbbiak egyikét, a tengeri szivacsból származó CRI247-01 izolátumot (Kasettrathat és mtsai 2008), nyilvános ITS szekvenciája alapján, a *P. echinochloae* (Periconiaceae) képviselőjeként azonosítottuk (3. ábra). Következésképpen, a Periconiaceae családban nem a *F. fulophazii* a vermelhotin egyedüli forrása, ami alapján e vegyület akár a család egy kemotaxonómiai bélyegéeként is kezelhető (Berek-Nagy és mtsai 2021). Tekintettel ugyanakkor a vermelhotin egymástól távoli rendekben (Pleosporales, Xylariales) is előforduló termelődésére, e vegyület bioszintézise a gombák evolúciója során több alkalommal, egymástól függetlenül jelenhetett meg (Kuhnert és mtsai 2014). A vermelhotin négy ismert forrása közül a Pleosporales rendet reprezentáló MEXU 26343 izolátumot a *Hintonia latiflora* (Rubiaceae) gyógynövény leveléből, a *F. fulophazii* izolátumokhoz hasonlóan, endofitonként izolálták (Leyte-Lugo és mtsai 2012). A vermelhotin számos biológiai aktivitását igazolták már. Jelentős citotoxikus és gyulladásgátló, valamint antimikobakteriális és antiplazmodiális hatással bír, azaz eredményesen gátolja a *Mycobacterium tuberculosis* és a *Plasmodium falciparum* kórokozókat (Kasettrathat és mtsai 2008, Pansanit és mtsai 2013, Ganihigama és mtsai 2015). Emellett gátolja a számos élettani folyamatban szerepet játszó, kalmodulin nevű kalciumkötő fehérjét, illetve a protein tirozin foszfatáz 1B (PTP1B) enzimet is (Leyte-Lugo és mtsai 2012, Díaz-Rojas és mtsai 2023). A vermelhotin hatásainak sokfélesége, ugyanakkor korlátozott hozzáférhetősége miatt a *F. fulophazii* endofiton gomba, a vermelhotin új és bőséges természetes forrásaként, jelentős szerepet tölthet be e vegyület további vizsgálatokhoz szükséges előállításában (Berek-Nagy és mtsai 2021).

A vermelhotin mellett a kivonatokban azonosítottunk további négy tetrámsav típusú összetevőt (1–4), melyek a vermelhotin új, természetes, dihidroxi-, hidroxi-, oxo- és metoxi-származékai (Berek-Nagy és mtsai 2021) (10.B–E ábra). Hasonlóan, Kuhnert és

mtsai (2014), a *H. lechatii* gomba kivonatában, a vermelhotin mellett azonosították annak hipoxi-vermelhotin A, B és C nevű származékait is (Kuhnert és mtsai 2014). Ahogy a vermelhotin, úgy ezek a származékok, illetve az általunk izolált hidroxivermelhotin is *E*- és *Z*-izomerek egyensúlyi keverékének bizonyultak (Kuhnert és mtsai 2014, Berek-Nagy és mtsai 2021).

A *F. fulophazii* endofiton gomba kivonataiban az öt tetrámsav típusú összetevő mellett azonosítottunk hét azafilon típusú, klórtartalmú összetevőt (**6–12**) is. Utóbbiak mindegyike új, természetes vegyületnek bizonyult, melyeknek – utalva a termelő gombára, illetve e vegyületek klórtartalmára – a flavoklorin A–G neveket adtuk (Berek-Nagy és mtsai 2021) (11. ábra, 7. táblázat).

Az azafilon (azafilonoid) típusú vegyületek gombák termelte, kétgyűrűs, piranokinon alapvázal rendelkező poliketidek. Nevüket a nitrogéntartalmú vegyületekkel szembeni reakciókészségükről kapták. Ammóniával, illetve aminocsoportot tartalmazó vegyületekkel való, Schiff bázis képződésével majd vízmolekula felszabadulásával járó reakciójuk során jellemzően színes, alapvázukban pirán oxigén helyett nitrogént tartalmazó származékok képződnek. Az azafilon típusú vegyületek aminocsoportot tartalmazó (makro)molekulákkal (aminosavak, fehérjék és nukleinsavak) való reakciója állhat sokrétű biológiai aktivitásuk hátterében (Gao és mtsai 2013).

Az általunk azonosított azafilon típusú összetevők alapvázában – a flavoklorin D (**12**) kivételével – nitrogén található, így ezek az összetevők a pirán oxigénnel rendelkező előanyagaik nitrogéntartalmú vegyületekkel való reakciói során alakulhattak ki. MS és NMR adataink alapján a flavoklorin E (**6**) és flavoklorin G (**11**) a pirán oxigénnel rendelkező flavoklorin D szerin, illetve norvalin aminosavval képzett származékainak tekinthetők (Berek-Nagy és mtsai 2021). Hasonlóan, a flavoklorin A (**8**) keletkezhetett a flavoklorin D és a szerin dekarboxilált származékának reakciójával. Az alapváz nitrogénjén oldalláncot nem hordozó flavoklorin B (**9**) pedig a flavoklorin A aminosav eredetű oldalláncának elvesztésével, vagy a flavoklorin D ammóniával való reakciója során képződhetett.

Azafilon típusú, akár klórtartalmú vegyületeket nagy számban azonosítottak különböző gombák kivonataiban (Gao és mtsai 2013). Zang és mtsai (2012) például egy endofiton *Diaporthe* izolátum kivonatában azonosítottak klórtartalmú, pirán oxigén helyett nitrogénnel rendelkező, azafilon típusú összetevőket, melyek kialakulását a flavoklorin összetevők kialakulásának általunk feltételezett mechanizmusához hasonlóan magyarázták. Ahogy fogalmazzuk, az izokromofilán X és XII összetevők a pirán oxigénnel rendelkező

szklerotiorin molekula fenilalanin és triptofán aminosavak dekarboxilált származékaival való reakciói során alakulhattak ki, az alapváz nitrogénjén oldalláncot nem hordozó szklerotioramin összetevő pedig a szklerotiorin ammóniával való reakciója során képződhetett (Zang és mtsai 2012). Megjegyzendő, hogy míg Zang és mtsai (2012) a *Diaporthe* izolátum kivonatában nem azonosították a szklerotiorin nevű vegyületet, addig nekünk a *F. fulophazii* izolátumok kivonataiban sikerült azonosítanunk a legtöbb nitrogéntartalmú flavoklorin összetevő előanyagának tekinthető, pirán oxigénnel rendelkező flavoklorin D vegyületet (Berek-Nagy és mtsai 2021).

A *F. fulophazii* endofiton gomba tehát, a ritka előfordulása, ám számos biológiai aktivitással bíró vermelhotin mellett 11 új, köztük négy tetrámsav- és hét azafilon típusú vegyület értékes forrásának bizonyult.

5.1.2 *Darksidea* izolátumok

5.1.2.1 *Darksidea* izolátumok azonosítása

A kutatócsoportunk által, számos hazai izolátum alapján leírt *Darksidea* nemzetség (Knapp és mtsai 2015) 33 izolátumát azonosítottuk Mongóliában gyűjtött *S. krylovii* (Knapp és mtsai 2019), egy izolátumát hazánkban gyűjtött *F. vaginata*, öt izolátumát pedig Kazahsztánban gyűjtött *Hordeum leporinum*, *S. capillata* és *Triticum aestivum* pázsitfűfélék gyökereiből (F.3. táblázat). Ezáltal elsőként igazoltuk a *Darksidea* nemzetség előfordulását Mongóliában és Kazahsztánban, valamint *H. leporinum*, *S. capillata* és *S. krylovii* gyökereiben.

Számos kutatás igazolja a *Darksidea* nemzetség jellemzően domináns előfordulását a kiskunsági nyílt homokpusztagyepek (Knapp és mtsai 2012, 2015) és az észak-amerikai prérók (Hawkes és mtsai 2006, Green és mtsai 2008, Porras-Alfaro és mtsai 2008, Herrera és mtsai 2010, 2011, Khidir és mtsai 2010, Carpenter és mtsai 2021, Romero-Jiménez és mtsai 2022, Rudgers és mtsai 2022) gyökérendofiton gombaközösségeiben. A kiterjedt sztyeppéknek otthont adó Ázsián belül csak Kínából, jellemzően Belső-Mongólia tartományból jelentették a nemzetség előfordulását (Su és mtsai 2010, Chen és mtsai 2018, Li és mtsai 2018, Hou és mtsai 2019, Chen és mtsai 2020, Nan és mtsai 2020, Yang és mtsai 2020a, Zuo és mtsai 2020, Xie és mtsai 2021b, Wang és mtsai 2022, Yuan és mtsai 2023). A Mongóliából azonosított izolátumaink jelentős része, mintegy a negyede reprezentálja a *Darksidea* nemzetséget (Knapp és mtsai 2019). A *Darksidea* nemzetség eurázsiai

sztyeppéken és észak-amerikai préríken tapasztalt, jellemzően gyakori előfordulása alátámasztja azt a feltételezést, miszerint a különböző földrajzi régiók füves területeinek gyökérendofiton gombaközösségei osztoznak bizonyos, e közösségek magjait képező taxonokon, így például a pázsitfűfélék gyökereit világszerte kolonizáló *P. macrospinoso* és *M. bolley* fajokon (Khidir és mtsai 2010, Knapp és mtsai 2012, 2015, 2019). Bár kiterjedt füves területek Dél-Amerikában, Afrikában és Ausztráliában is találhatóak, a *Darksidea* nemzetség előfordulását a déli félgömb ökoszisztémáinak gyökéraszociált gombaközösségeivel foglalkozó tanulmányok (pl. Pili és mtsai 2016, Johansen és mtsai 2017, Lugo és mtsai 2018) egyike sem igazolta.

A *Darksidea* nemzetség képviselői elsősorban a pázsitfűfélék gyökereit kolonizálják (pl. Knapp és mtsai 2012, Romero-Jiménez és mtsai 2022), de igazolták előfordulásukat egyes, a bálványfafélék (*Simaroubaceae*), a káposztafélék (*Brassicaceae*), az őszirózsafélék (*Asteraceae*), a pillangósvirágúak (*Fabaceae*), a szegfűfélék (*Caryophyllaceae*) és a szuharfélék (*Cistaceae*) családjába tartozó, jellemzően fás szárú növények gyökereiben is (Knapp és mtsai 2012, Glynou és mtsai 2016, Chen és mtsai 2018, Li és mtsai 2018, 2021, Hou és mtsai 2019, Zuo és mtsai 2020, Carpenter és mtsai 2021). A jelen munkáink keretében *Darksidea* izolátumok forrásának bizonyult *F. vaginata*, *H. leporinum*, *S. capitata*, *S. krylovii* és *T. aestivum* fajok közül *F. vaginata* és *T. aestivum* gyökereiből korábban is előkerültek e nemzetség képviselői (Knapp és mtsai 2012, 2015, Bokati és mtsai 2016), illetve *S. krylovii* rizoszférájából kimutattak *Darksidea* nemzetséget reprezentáló DNS szekvenciákat (Nan és mtsai 2020, Xie és mtsai 2021b). Az egyetlen, külföldi kutatócsoporttól kapott, de általunk azonosított izolátumon (SP55) kívül, számos *Darksidea* izolátum került már elő *F. rubra* subsp. *pruinosa* gyökereiből is (Pereira és mtsai 2019).

A *Darksidea* nemzetség előfordulásával kapcsolatos ismereteinkhez hozzájárul, hogy számos, még a nemzetség leírását megelőzően, nemzetség szintjén nem, vagy tévesen a *Paraphaeosphaeria* nemzetség képviselőjeként azonosított izolátum és szekvencia valójában a *Darksidea* nemzetséget reprezentálja (Knapp és mtsai 2015).

A jelen vagy korábbi munkáink keretében általunk izolált, valamint a külföldi kutatócsoportok által rendelkezésünkre bocsátott izolátumokkal együtt egy különböző kontinensekről és ökoszisztémákból, elsősorban pázsitfűfélék, de más családokat is reprezentáló növények gyökereiből származó, összesen 106 *Darksidea* izolátumból álló gyűjteményre tettünk szert.

Meghatároztuk mind a 106 izolátum ITS, LSU, SSU, valamint *TEF1-α* és *βTUB* szekvenciáit, amennyiben azok nem álltak rendelkezésünkre korábbi tanulmányokból (Knapp és mtsai 2015, Glynou és mtsai 2016, Romero-Jiménez és mtsai 2022). Bár a gombák DNS vonalkódjaként („DNA barcode”) számon tartott nrDNA ITS régió önmagában alkalmas a gombák széles körének fajszerű azonosítására, egyes esetekben szükség van további riboszomális (LSU, SSU), illetve fehérjekódoló gének (pl. *TEF1-α*, *βTUB*) szekvenciáinak meghatározása, filogenetikai elemzésekhez történő felhasználására is (Raja és mtsai 2017). A *Darksidea* izolátumok különböző szekvenciáinak felhasználásával, a nemzetség *Lentitheciaceae* családon belüli helyzetének megállapítása, valamint a nemzetségen belüli leszármazási vonalak megkülönböztetése céljából, család- és nemzetség-szintű filogenetikai elemzéseket végeztünk.

A családszintű filogenetikai elemzés megerősítette a *Darksidea* nemzetség *Lentitheciaceae* családban elfoglalt helyzetét (Knapp és mtsai 2015, Tanaka és mtsai 2015) (4. ábra). A *Lentitheciaceae* családba jellemzően vízi és szárazföldi növényeken előforduló szaprotróf gombák tartoznak (Zhang és mtsai 2009). Molekuláris filogenetikai elemzések, illetve az ivaros és ivartalan alakok morfológiája alapján a családot 20 nemzetség (*Crassoascoma*, *Darksidea*, *Groenewaldia*, *Halobyssothecium*, *Katumotoa*, *Keissleriella*, *Lentithecium*, *Murilentithecium*, *Neolentithecia*, *Neoophiosphaerella*, *Paralentithecium*, *Phragmocamarosporium*, *Pleurophoma*, *Poaceascoma*, *Pseudokeissleriella*, *Pseudomurilentithecium*, *Setoseptoria*, *Tingoldiella*, *Towyspora* és *Wettsteinina*) alkotja (Rajeshkumar és mtsai 2023, Shen és mtsai 2023). Elemzésünk alapján a *Darksidea* nemzetség testvércsoportja a közelmúltban leírt *Crassoascoma* nemzetség (Liu és mtsai 2022), közeli rokonai továbbá a *Halobyssothecium* nemzetség (Dayarathne és mtsai 2018, Calabon és mtsai 2021), illetve a *Lentithecium* nemzetségbe tartozó *L. clioninum*, *L. pseudoclioninum* és *L. fluviatile* fajok is (Zhang és mtsai 2009, Calabon és mtsai 2021) (4. ábra). Mivel a *L. fluviatile* a család típusfaja (Zhang és mtsai 2009), a *Darksidea* nemzetség a *Lentitheciaceae* család magjához tartozik. A filogenetikai fán szereplő *L. aquaticum* nem tagja a *Lentithecium* nemzetségnek, a *Darksidea*, *Crassoascoma*, *Halobyssothecium* és *Lentithecium* nemzetségek alkotta klád mellett egy önálló leszármazási vonalat képez (Calabon és mtsai 2021). Az elemzés eredményeként, ahogy a *F. fulophazii* endofiton gombának is otthont adó *Periconiaceae* család monotipikus nemzetségei beékelődtek a *Periconia* nemzetség képviselői közé, úgy a *Murilentithecium*, *Phragmocamarosporium* és *Pleurophoma* nemzetségek is beékelődtek a *Keissleriella* nemzetség képviselői közé,

utalva a Lentitheciaceae család legalább egyes leszármazási vonalainak tisztázatlan taxonómiájára. A *Darksidea* nemzetség azonban egy erős támogatottságú, monofiletikus leszármazási vonalat képez a Lentitheciaceae családon belül (pl. Calabon és mtsai 2021, Liu és mtsai 2022, Shen és mtsai 2023) (4. ábra).

A Lentitheciaceae családba tartozó nemzetségeket és fajokat rendszerint az ivaros alakok morfológiája alapján jellemzik, így van ez a *Darksidea* nemzetség legközelebbi rokonainak számító *Crassoascoma*, *Halobyssothecium* és *Lentithecium* nemzetségek esetében is (Calabon és mtsai 2021, Liu és mtsai 2022). A *Darksidea* nemzetség képviselői azonban más, szintén a Pleosporales rendet reprezentáló gyökérendofiton gombákhoz (pl. *F. fulophazii*) hasonlóan, nem képeznek termőtesteket. Termőtestek és termőtestszerű struktúrák képződését *Darksidea* izolátumok esetében mindössze egyszer, a mi kutatócsoportunknak sikerült indukálnia (Knapp és mtsai 2015). Azóta mi sem, illetve az izolátumokat rendelkezésünkre bocsátó külföldi kutatócsoportok sem figyeltek meg ivaros szaporítóképleteket, a különböző laboratóriumokban alkalmazott különböző tenyésztési körülmények, valamint az izolátumok hosszú ideje történő fenntartása ellenére sem. A termőtestek hiánya, valamint a konspecifikus izolátumok általunk is tapasztalt genetikai és morfológiai heterogenitása (Knapp és mtsai 2015, Romero-Jiménez és mtsai 2022) miatt, a *Darksidea* nemzetség különböző leszármazási vonalainak megkülönböztetéséhez a makro- és mikromorfológiai vizsgálatokon, valamint a többlókuszos filogenetikai elemzésekén túl, az izolátumok más szempontok alapján történő jellemzése is szükséges. Ilyen szempont lehet az izolátumok metabolittermelése is. A gombák metabolittermelésének számos esetben igazolt taxonspecificitása (Frisvad és mtsai 2008) alapján azt feltételeztük, hogy a *Darksidea* izolátumok metabolikus összetételének meghatározása során kimutathatunk olyan másodlagos anyagcseretermékeket, melyek egyes izolátumokban tapasztalt termelődése, a molekuláris filogenetikai elemzések eredményeit kiegészítve, segíthet a nemzetség, azon belül pedig a különböző fajok, leszármazási vonalak pontosabb lehatárolásában.

Az izolátumaink szekvenciáin alapuló nemzetségszintű filogenetikai elemzés eredményeként a *Darksidea* nemzetség 15 leszármazási vonalát (1–15) különböztettük meg. Ezek közül hetet a *D. alpha*, *D. beta*, *D. gamma*, *D. delta*, *D. epsilon*, *D. zeta* (Knapp és mtsai 2015) és *D. phi* (Romero-Jiménez és mtsai 2022) fajokként, hatot pedig, az izolátumok filogenetikai helyzetét, makro- és mikromorfológiáját, valamint metabolikus összetételét egyaránt figyelembe véve, a tudományra feltehetően új *D. eta* nom. prov., *D.*

theta nom. prov., *D. iota* nom. prov., *D. kappa* nom. prov., *D. lambda* nom. prov. és *D. omega* nom. prov. fajokként azonosítottunk (5. ábra).

A nyilvános szekvenciákra alapuló nemzetségszintű filogenetikai elemzés eredményeként, a *Darksidea* nemzetségben belül, az izolátumaink által (is) reprezentált kládokon (1–15) felül legalább hét leszármazási vonalat (16–22) különböztettünk meg, melyek további új fajokat képviselhetnek. A nyilvános szekvenciák zömmel az izolátumaink szekvenciáihoz társultak, igaz, az izolátumaink által (is) reprezentált kládokhoz igen eltérő számban. Míg az 1-es és 9-es kládokat reprezentáló izolátumaink szekvenciáihoz kiemelkedően sok, addig a 2-es, 3-as, 4-es, 10-es, 13-as és 15-ös kládokat reprezentáló izolátumaink szekvenciáihoz mindössze néhány, vagy akár egyetlen nyilvános szekvencia sem társult. A nyilvános szekvenciák kládok közti eloszlása összhangban van a 106 izolátum kládok közti eloszlásával. Ahogy az izolátumaink, úgy a nyilvános szekvenciák jelentős része is a *D. alpha* fajt reprezentáló 1-es kládba tartozik, összhangban e faj kiemelkedően gyakori előfordulásával (Knapp és mtsai 2015, Romero-Jiménez és mtsai 2022). Az 1-es kládon belüli, magas támogatottságú 1A alkládba az ide tartozó izolátumaink számához képest szembetűnően sok nyilvános szekvencia tartozik. Szintén kiemelkedő számú nyilvános szekvencia tartozik az izolátumaink közül csupán hetet tartalmazó, a *D. phi* fajt reprezentáló 9-es kládba, mely e faj észak-amerikai préríken tapasztalt széles, bizonyos területeken kifejezetten gyakori előfordulásával függhet össze (Romero-Jiménez és mtsai 2022). A letöltött szekvenciák, a *Darksidea* izolátumok eredetének megfelelően, Eurázsia és zömmel Észak-Amerika elsősorban füves területeiről származnak, Dél-Amerikából, Afrikából és Ausztráliából egyetlen szekvenciát sem kaptunk. A pusztán az izolátumaink szekvenciái, valamint a nyilvános szekvenciák felhasználásával kapott filogenetikai fák összevetve a kládok egymáshoz viszonyított filogenetikai helyzete több ponton is eltér egymástól. Például, a pusztán az izolátumaink szekvenciáin alapuló filogenetikai elemzés eredményeként egy teljes támogatottságú csoportot képező, ugyanakkor egymástól elkülönülő 6-os, 7-es és 8-as kládok a nyilvános szekvenciákra alapuló filogenetikai elemzés eredményeként, a 18-as kláddal kiegészülve, továbbra is egy erős támogatottságú csoportot képeznek, a csoporton belül azonban már nem különülnek el egymástól, sőt, megjelenik közöttük egy *D. alpha* és az egyetlen *D. lambda* nom. prov. szekvencia is. Ezt legalább részben magyarázhatja, hogy míg az előbbi elemzés a rendelkezésünkre álló izolátumok különböző szekvenciáin (ITS, LSU, *TEF1-α*, *βTUB*), addig az utóbbi elemzés a nemzet-

séget reprezentáló jóval több, ugyanakkor mindössze ITS szekvenciákon alapult. A letöltött nyilvános szekvenciák a *Darksidea* nemzetség zömmel tenyésztésbe nem vont képviselőinek szekvenciái („*uncultured sequences*”), melyek egyes, elsősorban az izolátumaink által nem reprezentált leszármazási vonalak esetében kiemelkedő mértékben képviseltetik magukat. Megállapítható, hogy a *Darksidea* nemzetség nyilvános ITS szekvenciák reprezentálta leszármazási vonalai hozzávetőlegesen egybeesnek az általunk vizsgált 106 izolátum ITS, LSU, *TEF1-α* és *βTUB* szekvenciái alapján megkülönböztetett leszármazási vonalaival, sőt, a nyilvános szekvenciák alapján a nemzetségnek további, potenciálisan új fajokat reprezentáló leszármazási vonalai is vannak.

5.1.2.2 *Darksidea* izolátumok vegyületei

Ahogy a *F. fulophazii*, úgy a *Darksidea* nemzetség másodlagos anyagcseretermékeit is elsőként azonosítottunk. A *Darksidea* nemzetség 15 leszármazási vonalát reprezentáló 106 izolátum kivonatainak vizsgálata során 18 összetevőt (**13–30**) azonosítottunk (13. ábra, 8. táblázat), melyek közül négy (**17, 19, 27, 30**) új, természetes vegyületnek bizonyult.

Azonosítottuk a *D. alpha* izolátumok döntő többségének kivonataiban fő összetevőként jelenlévő, ugyanakkor további *Darksidea* fajok kivonataiban is előforduló, petaszol (**15**) vegyületet. A petaszol mellett azonosítottuk a rokon szerkezetű izopetaszol (**16**) és 3-epi-petaszol (**18**) összetevőket, valamint a petaszol és az izopetaszol új, oxidált származékait (**19, 17**) is (13.A, 15. ábrák).

A petaszol és azonosított származékai (**16–19**) terpén, azon belül pedig eremofilán szeszkviterpén típusú vegyületek (Sugama és mtsai 1983). A petaszol, az izopetaszol és a 3-epi-petaszol egymás izomerjei, melyet MS adataik (14. ábra, 8. táblázat) is alátámasztanak. A 3-epi-petaszol a petaszol C-3 epimerje, azaz a 3-as szénatomhoz kapcsolódó funkciós csoportok térállása e két vegyület között különböző. Az izopetaszol esetében az izopropenil oldallánc kettős kötése a 7-es és 11-es, míg a petaszol és a 3-epi-petaszol esetében a 11-es és 12-es szénatomok között helyezkedik el (Sugama és mtsai 1983, Le és mtsai 2013). Az izopetaszol oxidált származékában a C-9–C-10 kettős kötés mellett van egy további, C-1–C-2 kettős kötés is, míg a petaszol oxidált származékában a 3-as szénatomhoz kapcsolódó hidroxilcsoport helyén egy oxocsoport található (15. ábra).

A petaszol és 3-epi-petaszol vegyületekhez képest az izopetaszol magasabb hullámhossztartományban is mutat elnyelést (F.9.C, D, F ábrák), ami annak tudható be, hogy az izopropenil oldalláncban található kettős kötés az izopetaszol esetében az oxocsoporthoz

közelebb helyezkedik el (15. ábra), kiterjedtebb elektronrendszert eredményezve a molekulában. Az, hogy az izopetaszol oxidált származéka (**17**) még az izopetaszol vegyülethez képest is magasabb hullámhossztartományban nyel el (F.9.D, E ábrák), azzal magyarázható, hogy a **17** összetevő gyűrűrendszerében egy további kettős kötés is található (15. ábra). A petaszol és annak oxidált származéka (**19**) azonban hasonló hullámhossztartományban nyelnek el (F.9.C, G ábrák), mivel a **19** összetevőben lévő további oxocsoport nem befolyásolja a vegyület elnyelését (15. ábra).

A petaszol és izomerjeinek, valamint az izopetaszol oxidált származékának azonos módon bekövetkező fragmentálódása (14.A–D, A'–D', 15. ábrák) e vegyületek azonos felépítésére, csupán a fragmentálódás menetét nem befolyásoló, például a funkciós csoportok eltérő térállásából adódó szerkezeti eltéréseire utal. Az izopetaszol oxidált származéka (**17**) esetében a protonált molekulák és fragmentum ionjaik 2 Da-nal kisebb tömege az e vegyületben található és a fragmentálódás során megmaradó további kettős kötésre, azaz a hidrogénatomok kettővel kisebb számára vezethető vissza. Bár a petaszol oxidált származékának (**19**) protonált molekulái is 2 Da-nal kisebb tömegűek, az e vegyületben a hidroxilcsoport helyén található további oxocsoport, s annak víz helyett jellemzően szén-monoxid formájában, már az első lépésben bekövetkező kilépése, illetve az így nagyobb arányban keletkezett m/z 205,16 ionok további fragmentálódása a **17** összetevő esetében jelentkező fragmentum ionoktól jellemzően eltérő tömegű és összegképletű ionok képződését eredményezi. Megjegyzendő, hogy a **19** összetevőben található további oxocsoport, a **17** összetevő esetében jelentkező m/z 215,14 majd m/z 187,15 fragmentum ionok megjelenését eredményezve, vízmolekula formájában is kiléphet, ami a **19** összetevőben található kettős kötések átrendeződésével magyarázható (14.E, E', 15. ábrák).

A fitotoxikus hatással is rendelkező petaszol (15. táblázat) és az izopetaszol különböző gombák és növények esetenként együttes előfordulású másodlagos anyagcseretermékei, míg a 3-epi-petaszol összetevőt eddig csak egyetlen zuzmóképző gombából azonosították (16. táblázat) (pl. Sugama és mtsai 1983, Sugawara és mtsai 1993, Le és mtsai 2013).

A petaszol és származékai mellett azonosítottuk a Kazahsztánból származó *D. alpha* izolátumok (KG037, KG091, KG235) kivonataiban jelentős mértékben felhalmozódó, ugyanakkor további *Darksidea* fajok kivonataiban is előforduló, fomopszidin (**25**) összetevőt (13.B, 16.C ábrák). A fomopszidin poliketid, azon belül pedig dekalin típusú vegyület (Halecker és mtsai 2020). Természetes forrásai a gombák különböző rendjeiből és nemzetségeiből kerülnek ki, ugyanakkor, hasonlóan a *Darksidea* izolátumokhoz, azok

szinte mindegyikét endofiton, de legalább növényasszociált gombaként azonosították (16. táblázat). A fomopszidin endofiton gombák és növények szimbiózisában betöltött szerepére utalhat, hogy a magas kőris (*Fraxinus excelsior*) leveleiből izolált *Hypoxylon rubiginosum* endofiton gomba, legalább részben az általa termelt fomopszidin antifungális hatása révén, *in vitro* gátolja a kőris hajtáselhalással járó megbetegedését („ash dieback”) okozó *Hymenoschyphus fraxineus* gomba növekedését (15., 16. táblázatok) (Halecker és mtsai 2020).

A KG037, KG091 és KG235 *D. alpha* izolátumok kivonataiban a fomopszidin mellett az aszkomikon A (26), az aszkomikon B (20) és a 6-deoxibosztrikoidin (22) vegyületeket is azonosítottuk (13.B, 17.G ábrák).

Az aszkomikon A és B összetevők poliketid, azon belül pedig piranonaftokinon típusú vegyületek (Opatz és mtsai 2008). Az aszkomikon A az aszkomikon B metiléter származéka, amit MS adataik is alátámasztanak. Protonált molekuláikból az aszkomikon B esetében víz, míg az aszkomikon A esetében metanol kilépésével keletkeznek a mindkét vegyület esetében ugyanúgy fragmentálódó m/z 271,06 ionok (17.A–D, G ábrák).

Az 5-deoxibosztrikoidin néven is ismert 6-deoxibosztrikoidin szintén poliketid, azon belül pedig 2-azaantrakinon típusú, nitrogéntartalmú vegyület (Jacobs és mtsai 2011). Szerkezete csaknem megegyezik az aszkomikon A és B szerkezetével, melyet a mindhárom vegyület tandem tömegspektrumában megjelenő m/z 115,05 (C_9H_7) fragmentum ion is bizonyít. Ez az ion az aszkomikon A és B vegyületekben megtalálható pirán oxigén helyén nitrogént tartalmazó 6-deoxibosztrikoidin esetében a nitrogén hidrogén-cianid formájában történő kilépésével keletkezhet (17.E–G ábrák).

Az aszkomikon A és B, valamint a 6-deoxibosztrikoidin együttes előfordulását több esetben is igazolták (16. táblázat) (Stodůlková és mtsai 2015, Xie és mtsai 2020). Ez azzal magyarázható, hogy a piranonaftokinon típusú összetevők a gombákban egy *in vivo* méregtelenítő mechanizmus keretében, a feleslegben lévő ammóniával reagálva analóg, 2-azaantrakinon típusú összetevőkké alakulhatnak át (Jacobs és mtsai 2011). Az aszkomikon A és B vegyületek egy azonosítatlan tömlősgombaként számon tartott forrását, az IBWF 77-89A izolátumot (Opatz és mtsai 2008), nyilvános ITS szekvenciája alapján, a Pleosporales rend egy legközelebb a *Nigrograna* nemzetséghez álló képviselőjeként azonosítottuk. A 6-deoxibosztrikoidin vegyületet termelő Pleosporales sp. F46 izolátum (Yang és mtsai 2021) szintén e nemzetség képviselőjének bizonyult (16. táblázat). Következésképpen, még ha e két, nemzetségszinten általunk azonosított izolátum egyikében

sem mutatták ki mind a három vegyület együttes előfordulását, a *Nigrograna* nemzetség e vegyületek újonnan azonosított, akár együttes forrásának is tekinthető. Igaz, e vegyületeket a *Biatriospora* nemzetség egyes képviselői is termelik (16. táblázat), a *Nigrograna* nemzetséget pedig a bevezetése óta nemcsak önálló nemzetséggént, hanem a *Biatriospora* nemzetség szinonimájaként is kezelték (Lu és mtsai 2022). Valójában, a mindhárom vegyületet termelő *Biatriospora* sp. CCF 4378 izolátumot (Stodůlková és mtsai 2015), anyagszertermékeinek azonosítása óta a *N. antibiotica* (*B. antibiotica*) típusörzészévé nyilvánították (Kolařík és mtsai 2017).

A számos endofiton gombából is azonosított 6-deoxibosztrikoidin (16. táblázat) az első-sorban növényi kórokozóként ismert *Fusarium graminearum* esetében a termőtestek sötét színét meghatározó melanin felépítésében játszik szerepet (Frandsen és mtsai 2016).

A *D. beta* rendelkezésünkre álló egyetlen izolátumában (DSE7/11) azonosítottuk a kizárólag erre a *Darksidea* fajra jellemző epikokkamid A (**23**) és epikokkamid D (**29**) vegyületeket, valamint azok mannóz helyett mannuronsav molekularészletet tartalmazó, új, természetes származékait (**27**, **30**) (13.C, 18.I ábrák). Mind a négy összetevő egy szénhidrát (mannóz vagy mannuronsav) és egy poliketid típusú molekularészletből, továbbá egy aminosav-származékból (tetrámsav) épül fel. Tandem tömegspektrumaikban, szerkezetüknek megfelelően, **23** és a két metilénsoporttal hosszabb szénláncú **29** esetében a mannóz, míg **27** és a szintén két metilénsoporttal hosszabb szénláncú **30** esetében a mannuronsav molekularészlet hidrolízissel történő kilépésével keletkező ionok azonosíthatók, a mind a négy összetevőből kilépő tetrámsav molekularészlet képezte ionok mellett (Wright és mtsai 2003, Wangun és mtsai 2007) (18. ábra). Az új, természetes vegyületeknek bizonyult **27** és **30** mellett a *D. beta* értékes forrása a biológiailag aktív **23** és **29** összetevőknek is, mivel ezeket szinte csak a gombák *Epicoccum* nemzetségének néhány, köztük endofiton képviselőjéből azonosították (16. táblázat).

A *D. eta* nom. prov. fő vegyületének tekinthető, ugyanakkor további *Darksidea* fajok kivonataiban is előforduló **21** összetevőt a monocerin vegyületként azonosítottuk (13.D, 19.B ábrák). A monocerin poliketid, azon belül pedig furobenzopiranon típusú vegyület (Aldridge és Turner 1970). E számos biológiai aktivitással, például fitotoxikus hatással rendelkező vegyület (15. táblázat) jó néhány természetes forrása között megtalálható a *Darksidea* nemzetség képviselőihez hasonlóan sötét szeptált endofiton *Microdochium bolleyi*, illetve a kukorica levélhalással járó „northern corn leaf blight” megbetegedését okozó *Exserohilum turcicum* növénypatogén gomba egyaránt (16. táblázat). Bár a

Darksidea nemzetségen belül a monocerin a *D. eta* nom. prov. fő vegyülete, kiemelkedő mértékben egy *D. alpha* izolátum (DS439) tenyészeiben halmozódott fel, a vegyület azonosítás céljából történő kinyerésére ezt az izolátumot használtuk fel.

A *D. theta* nom. prov. számos, csak erre a *Darksidea* fajra jellemző másodlagos anyagcseretermék közül azonosítottuk a PF1092C nevű összetevőt (**14**) és annak C-2 epimerjét (**13**) (13.E, 20.E ábrák). Mindkét összetevő terpén, azon belül pedig, a petaszol és azonosított származékaihoz hasonlóan eremofilán szeszkviterpén típusú vegyület. Természetes forrásaik a gombák néhány nemzetségének egy-egy izolátumára korlátozódnak, ráadásul, ezekben az izolátumokban is vagy csak az egyik, vagy csak a másik összetevőt azonosították (16. táblázat) (Tabata és mtsai 1997b, Qin és mtsai 2015, Cheng és mtsai 2016). Ezzel szemben, mi mindkét összetevőt azonosítottuk a *D. theta* nom. prov. rendelkezésünkre álló mindkét izolátumában, ami alapján e faj mindkét vegyület megbízható forrásának tekinthető, s szerepet játszhat a PF1092C és származékainak nem-szteroid típusú, progeszteron receptor antagonistá hatóanyagként történő alkalmazhatóságának Tabata és mtsai (1997b) által megkezdett kutatásában (15. táblázat).

A *D. phi* izolátumok egyikének (DS194) kivonatában azonosítottuk a csak erre a fajra jellemző F2928-1 (**24**) és F2928-2 (**28**) nevű vegyületeket (13.F, 21.C ábrák). Mindkét összetevő poliketid, azon belül pedig dekalin típusú vegyület, melyek közül **28** egy, míg **24** két epoxid funkciós csoporttal is rendelkezik (Kanai és mtsai 2005) (21.C ábra). Mindkét vegyület esetében a k molekuláriszlet ($C_5H_{10}O$) kilépésével nagy arányban keletkező fragmentum ionok (m/z 387,18 **24**, illetve m/z 371,18 **28** esetében) – az epoxidcsoportokat tartalmazó lipidek fragmentálódásának megfelelően (Feng és mtsai 2019) – e vegyületek epoxidcsoport mentén bekövetkező fragmentálódásával jöhetnek létre (21. ábra). Mivel a biológiailag aktív **24** és **28** összetevőket eddig csak a gombák *Cladobotryum* nemzetségének néhány izolátumából azonosították (16. táblázat) (Kanai és mtsai 2005, Mitova és mtsai 2006, Watanabe és mtsai 2022), a *D. phi* faj e vegyületek igen értékes forrásának bizonyult. Igaz, a rendelkezésünkre álló hét *D. phi* izolátum közül csak egy termelte e vegyületeket, a Kanai és mtsai (2005), valamint a Watanabe és mtsai (2022) vizsgálta *Cladobotryum* izolátumokhoz hasonlóan a **24** összetevőt jóval nagyobb arányban a Mitova és mtsai (2006) vizsgálta *Cladobotryum* izolátum által is termelt (16. táblázat), kladootrinsav E névvel illetett **28** összetevőhöz képest.

Összességében tehát, a *Darksidea* nemzetség izolátumainak vegyületeit elsőként meghatározva, 18 másodlagos anyagcsereterméket azonosítottunk, melyek közül a petaszol

és izopetaszol oxidált származékai, valamint az epikokkamid A és D mannuronsavas származékai új, természetes vegyületeknek bizonyultak.

Az azonosított összetevők között vannak olyanok, melyek a HPLC-UV kromatogramok alapján jellemzőnek tűnnek a *Darksidea* nemzetség egészére, vagy bizonyos leszármazási vonalaira (13. ábra). A petaszol például, számos *Darksidea* faj legalább néhány izolátumában tapasztalt termelődése révén a nemzetség, azon belül pedig elsősorban a *D. alpha* jellemző anyagcseretermékének tekinthető. A monocerin, bár legnagyobb mennyiségben egy *D. alpha* izolátumban halmozódott fel, a *D. eta* nom. prov. jellemző anyagcseretermékeként kezelhető. A PF1092C és C-2 epimerje, számos más, azonosításra váró összetevő mellett, kizárólag a két *D. theta* nom. prov. izolátumban termelődtek, ami alátámasztja e két izolátum konspecifikus voltát (5. ábra). Igaz, a *D. iota* nom. prov. két izolátumának metabolikus összetétele éppen hogy igen eltérőnek bizonyult. A monocerin elsősorban a *D. eta* nom. prov. fajra jellemző, illetve a PF1092C és C-2 epimerjének a *D. theta* nom. prov. fajra korlátozódó termelődése, továbbá e fajok esetében a *D. alpha* izolátumokra kifejezetten jellemző petaszol termelődésének elmaradása alátámasztja e két, a *D. alpha* fajtól filogenetikailag egyébként kevésbé elkülönülő faj létjogosultságát (5. ábra). A *Darksidea* nemzetség fajra jellemző összetevőinek sorát gyarapítják a kizárólag az egyetlen *D. beta* izolátumban termelődött epikokkamid A, D és uronsavas származékaik, továbbá a kizárólag a *D. phi* hét izolátumának egyikében termelődött F2928-1 és F2928-2 vegyületek.

A *Darksidea* nemzetség egészére, vagy bizonyos leszármazási vonalaira jellemző összetevők előfordulása mellett, a HPLC-UV kromatogramok alapján az is megállapítható, hogy a különböző földrajzi régiókból származó, különböző korú és különböző körülmények között fenntartott konspecifikus izolátumok metabolikus összetétele nagyrészt hasonló. Következésképpen, a *Darksidea* izolátumok metabolikus összetételének meghatározása, a nemzetség taxonómiai nehézségeire való tekintettel, a molekuláris filogenetikai elemzések és morfológiai vizsgálatok eredményeivel együtt alkalmas lehet a különböző leszármazási vonalak pontosabb lehatárolására. A molekuláris filogenetikai elemzések, esetleg morfológiai vizsgálatokból, valamint a metabolikus profilok összehasonlításából származó eredmények egymást alátámasztó vagy éppen kiegészítő jellegét számos esettanulmány igazolja. Gonzalez-Menendez és mtsai (2017), különböző *Preussia* fajokat reprezentáló izolátumok metabolikus profiljait összevetve, azonosítottak filogenetikailag egymáshoz közel álló fajok megkülönböztetésére alkalmas anyagcseretermékeket is.

Molnár és mtsai (2023), az *Alternaria alternata* és *A. arborescens* izolátumaikat a metabolikus profiljaik összevetésével is el tudták egymástól különíteni, a két fajkomplexben szignifikánsan eltérő koncentrációjú vegyületek alapján.

A *Darksidea* nemzetségből azonosított vegyületek igazolt forrásai vegyületenként jellemzően mindössze néhány gombanemzetségre és -fajra, pontosabban azoknak is csupán néhány törzsére korlátozódnak (16. táblázat). Ennek oka e vegyületek ritka előfordulása mellett az egyes tanulmányok keretében vizsgált konspecifikus vagy kongenerikus, a vegyületet valószínűleg szintén termelő törzsek alacsony száma is lehet. Bár a Khambhati és mtsai (2020) által vizsgált 89 *Macrophomina phaseolina* izolátum közül csak egy bizonyult monocerintermelőnek, Pourmoghaddam és mtsai (2020) különböző *Hypoxylon* fajok 33 izolátumából 17 esetében igazolták a fomopszidin termelődését. A monocerin *Exserohilum* nemzetségben gyakori előfordulására csak több különböző, jellemzően egy-egy törzset vizsgáló tanulmányból következtethetünk. Az azonosított vegyületek igazolt forrásai sok esetben a *Darksidea* izolátumokhoz hasonlóan endofiton, de szinte minden esetben növényekkel vagy állatokkal együtt élő, esetleg zuzmóképző gombák, melyből az azonosított vegyületek szimbiózisban betöltött szerepére következtethetünk. A termelő törzsek számos esetben ritka előfordulású növényekből, esetleg tengeri környezetből származnak, a vegyületek nehezen hozzáférhető forrásit képezve (16. táblázat). Ezzel szemben a széles földrajzi elterjedésű *Darksidea* nemzetség füves területeken kifejezetten gyakori képviselői, könnyű hozzáférhetőségük és fenntarthatóságuk révén e számos biológiai aktivitással rendelkező vegyületek (15. táblázat) igen értékes forrásainak tekinthetők.

15. táblázat. A *Darksidea* izolátumok tenyészeiben azonosított vegyületek ismert biológiai aktivitásai.

	vegyület	biológiai aktivitás	referencia
13	PF1092C C-2 epimerje	nitrogén-monoxid-termelés gátló	Cheng és mtsai 2016
14	PF1092C	progeszteron-receptor ligandum	Tabata és mtsai 1997b
15	petaszol	antifungális	Bu és mtsai 2015
		antivirális	Jayasuriya és mtsai 2005
		citotoxikus	Bunkers és mtsai 1990, Liu és mtsai 2005, Wang és mtsai 2014, Daengrot és mtsai 2015, Shiono és mtsai 2017, Forsch és mtsai 2020
		fitotoxikus	Bunkers és mtsai 1990, Bunkers és Strobel 1991
		gyökérképzés stimuláló	Bunkers és mtsai 1990
		nitrogén-monoxid-termelés gátló	Chen és mtsai 2021
		PPAR γ transzkripció faktor aktiváló	Germoush és mtsai 2020
16	izopetaszol	intracelluláris kalciumszint növelő	Benemei és mtsai 2017
20	aszkomikon B	antibakteriális	Opatz és mtsai 2008
		antifungális	Opatz és mtsai 2008 ^a
		citotoxikus	Opatz és mtsai 2008, Stodůlková és mtsai 2015
21	monocerin	alfa-glükózidáz gátló	Kong és mtsai 2015
		antibakteriális	Zhang és mtsai 2008, Pinheiro és mtsai 2017, NajeerAhamed és mtsai 2021 ^b
		antifungális	Aldridge és Turner 1970, Zhang és mtsai 2008, Rupcic és mtsai 2018, d'Errico és mtsai 2020
		antioxidáns	Tianpanich és mtsai 2011
		antivirális	Kong és mtsai 2015
		citotoxikus	Tianpanich és mtsai 2011, Chen és mtsai 2015, Gao és mtsai 2019
		fitotoxikus	Robeson és Strobel 1982, Cuq és mtsai 1993, 1995, Ko 1994, Lim 1999, Zhang és mtsai 2008
		parazitagátló	Sappapan és mtsai 2008, Coronado és mtsai 2021
		rovarölő	Claydon és mtsai 1979
		sejtosztódás serkentő	Gomes és mtsai 2023
22	6-deoxibosztrikoidin	antibakteriális	Mao és mtsai 2021, Moni és mtsai 2022, Lin és mtsai 2023
		citotoxikus	Cui és mtsai 2017, Moni és mtsai 2022, Lin és mtsai 2023
23	epikokkamid A	antibakteriális	Talontsi és mtsai 2013, Kwon és mtsai 2023
		antifungális	Harwoko és mtsai 2020
		citotoxikus	Kwon és mtsai 2023
		parazitagátló	Fatima és mtsai 2016 ^b
24	F2928-1	antifungális	Kanai és mtsai 2005, Watanabe és mtsai 2022
25	fomopszidin	antibakteriális	Halecker és mtsai 2020

		antifungális	Talontsi és mtsai 2012 ^a , Halecker és mtsai 2020
		citotoxikus	Lin és mtsai 2011, Halecker és mtsai 2020
		mikrotubulus gátló	Namikoshi és mtsai 1997
26	aszkomikon A	antibakteriális	Opatz és mtsai 2008
		antifungális	Opatz és mtsai 2008
		citotoxikus	Opatz és mtsai 2008
28	F2928-2	antibakteriális	Mitova és mtsai 2006, Dao és mtsai 2022
		antifungális	Kanai és mtsai 2005, Mitova és mtsai 2006, Watanabe és mtsai 2022
		citotoxikus	Mitova és mtsai 2006
29	epikokkamid D	citotoxikus	Wangun és mtsai 2007
		gomba-morfogenezis stimuláló	Wangun és mtsai 2007
		parazitagátló	Fatima és mtsai 2016 ^b

^a A nem a valódi gombák (Fungi) körébe tartozó petespórás gombák (Oomycota) egy képviselőjét (is) gátolja az adott vegyület.

^b Az adott vegyületre *in silico* elemzések alapján jellemző az adott biológiai aktivitás.

PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ): egy számos anyagcsere-folyamatot szabályozó transzkripciósfaktor (Germoush és mtsai 2020).

A *Darksidea* izolátumok tenyészeiben azonosított további vegyületek biológiai aktivitását, a legjobb tudásunk szerint, nem igazolták.

16. táblázat. A *Darksidea* izolátumok tenyészeiben azonosított vegyületek forrásaira vonatkozó szakirodalmi ismeretek.

	vegyület	vegyület forrása	törzsek száma	törzsek életmódja	törzsek eredete	referencia
13	PF1092C C-2 epimerje	<i>Acremonium</i> sp.	1	-	mélytengeri üledék	Cheng és mtsai 2016
14	PF1092C	<i>Rasamsonia oblata</i> (<i>Penicillium oblatum</i>)	1	-	n. m.	Tabata és mtsai 1997b
		<i>Stachybotrys</i> sp.	1	-	azonosítatlan tengeri szivacs	Qin és mtsai 2015
15	petaszol	azonosítatlan zuzmóképző gomba	n. m.	-	<i>Sarcographa tricola</i> zuzmó	Le és mtsai 2013
		<i>Bipolaris gigantea</i> (<i>Drechslera gigantea</i>)	1	fitopatogén	n. m. ^d	Bunkers és mtsai 1991
		<i>Penicillium</i> sp.	1	-	talaj	Jayasuriya és mtsai 2005
			1	endofiton	<i>Ficus tinctoria</i> subsp. <i>gibbosa</i> (<i>F. ampelas</i>) növény	Shiono és mtsai 2017
		<i>P. citrinum</i>	1	-	Zoantharia sp. korall	Yurchenko és mtsai 2013
		<i>P. copticola</i>	1	-	azonosítatlan tengeri szivacs	Bu és mtsai 2015
			1	-	talaj	Daengrot és mtsai 2015
		<i>Phomopsis</i> sp.	1	endofiton	<i>Kandelia candel</i> levele	Chen és mtsai 2021
		<i>Globba schomburgkii</i>	-	-	-	Suekaew és mtsai 2020
		<i>Ligularia fischeri</i>	-	-	-	Wang és mtsai 2014
		<i>L. rumicifolia</i>	-	-	-	Ye és mtsai 2018
		<i>Parasenecio quinquelobus</i>	-	-	-	Muhammad és mtsai 2021
		<i>Petasites formosanus</i>	-	-	-	Lin és mtsai 1998
		<i>Pet. pyrenaicus</i> (<i>Pet. fragrans</i>)	-	-	-	Sugama és mtsai 1983
		<i>Sinacalia tangutica</i> (<i>Cacalia tangutica</i>)	-	-	-	Liu és mtsai 2005
		<i>Padina pavonica</i>	-	-	-	Germoush és mtsai 2020
16	izopetaszol	azonosítatlan zuzmóképző gomba	n. m.	-	<i>Sarcographa tricola</i> zuzmó	Le és mtsai 2013
		<i>Penicillium</i> sp.	1	-	denevérürülék	Del Valle és mtsai 2015
		<i>P. copticola</i>	1	-	talaj	Daengrot és mtsai 2015
		<i>Dendrobium nobile</i>	-	-	-	Liu és mtsai 2023
		<i>Ligularia fischeri</i>	-	-	-	Wang és mtsai 2014
		<i>Parasenecio quinquelobus</i>	-	-	-	Muhammad és mtsai 2021
		<i>Petasites formosanus</i>	-	-	-	Lin és mtsai 1998
		<i>Pet. pyrenaicus</i> (<i>Pet. fragrans</i>)	-	-	-	Sugama és mtsai 1983
18	3-epi-petasol	azonosítatlan zuzmóképző gomba	n. m.	-	<i>Sarcographa tricola</i> zuzmó	Le és mtsai 2013
20	aszkomikon B	<i>Aspergillus terreus</i>	1 ^a	-	n. m.	Tang és mtsai 2022
		<i>Nigrograna</i> sp. ← azonosítatlan tömlősgomba	1	n. m.	azonosítatlan növény elhalt ágának kérge	Opatz és mtsai 2008

		<i>N. antibiotica (Biatriospora antibiotica)</i>	1	endofiton	<i>Ulmus laevis</i> egészséges ága	Stodůlková és mtsai 2015, Kolařík és mtsai 2017
		<i>Ulospora bilgramii</i>	1	-	<i>Umbilicaria</i> sp. zuzmó	Xie és mtsai 2020
21	monocerin	<i>Aspergillus</i> sp.	1	-	azonosítatlan tengeri szivacs	Kong és mtsai 2015
		<i>Botryosphaeria</i> sp.	1	endofiton	<i>Kandelia candel</i> termése	Ju és mtsai 2015
		<i>Colletotrichum</i> sp.	1	endofiton	<i>Piper ornatum</i> növény	Tianpanich és mtsai 2011
		<i>C. acutatum</i>	(2)	fitopatogén ^b	<i>Olea europaea</i> termése	Riolo és mtsai 2023
		<i>C. coccodes</i>	1	fitopatogén	n. m.	Steglińska és mtsai 2023
		<i>C. gloeosporioides</i>	n. m.	endofiton	n. m.	NajeerAhamed és mtsai 2021
			(2)	fitopatogén ^b	<i>Olea europaea</i> és <i>Citrus limon</i> termése	Riolo és mtsai 2023
		<i>C. godetiae</i>	(2)	fitopatogén ^b	<i>Olea europaea</i> termése	
		<i>C. karsti</i>	(2)	fitopatogén ^b	<i>Olea europaea</i> termése és <i>Camellia</i> sp. ága	
		<i>Drechslera</i> sp.	1	endofiton	<i>Neurachne alopecuroidea</i> gyökere	d'Errico és mtsai 2020
		<i>Exserohilum</i> sp.	1	endofiton	<i>Acer truncatum</i> levele	Li és mtsai 2014
			1	-	<i>Palythoa haddoni</i> korall	Coronado és mtsai 2021
		<i>E. holmii</i>	1	fitopatogén	n. m. ^c	Sugawara és mtsai 1985
		<i>E. monoceras (Helminthosporium monoceras)</i>	1	n. m.	n. m.	Aldridge és Turner 1970
			1	fitopatogén	n. m. ^f	Lim 1999
		<i>E. rostratum (Setosphaeria rostrata)</i>	1	endofiton	<i>Stemona</i> sp. egészséges levele	Sappapan és mtsai 2008
			1	endofiton	<i>Schnella guianensis (Bauhinia guianensis)</i> növény	Pinheiro és mtsai 2017
			1	-	<i>Harmonia axyridis</i> rovar	Gao és mtsai 2019
			1	endofiton	<i>Croton blanchetianus</i> levele	Gomes és mtsai 2023
		<i>E. turcicum</i>	1	fitopatogén	<i>Sorghum halepense</i> fertőzött levele	Robeson és Strobel 1982
			3	fitopatogén	<i>Zea mays</i> fertőzött levele	Cuq és mtsai 1993
		<i>Lasiodiplodia theobromae (Botryodiplodia theobromae)</i>	1	endofiton	<i>Dracaena draco</i> levele	Zaher és mtsai 2015
		<i>Leptosphaeria maculans</i>	1	fitopatogén	<i>Osmanthus fragrans</i> növény	Liao és mtsai 2019
		<i>Macrophomina phaseolina</i>	1	fitopatogén	fertőzött <i>Glycine max</i> növény	Khambhati és mtsai 2020
		<i>Microcera larvarum (Fusarium larvarum)</i>	2	-	n. m. ^g	Grove és Pople 1979

		<i>Microdochium bolleyi</i>	1	endofiton	<i>Zygophyllum creticum</i> (<i>Fagonia cretica</i>) növény	Zhang és mtsai 2008
		<i>Penicillium</i> sp.	2	-	<i>Ircinia oros</i> tengeri szivacs	Chen és mtsai 2015
		<i>Pseudobambusicola thailandica</i>	1	n. m.	azonosítatlan növény ága	Rupcic és mtsai 2018
22	6-deoxibosztrikoidin	<i>Biatriospora</i> sp.	1	-	<i>Pseudocyphellaria</i> sp. zuzmó	Zhou és mtsai 2016
		<i>Diaporthe phaseolorum</i>	1	endofiton	<i>Acanthus ebracteatus</i> subsp. <i>ebracteatus</i> (<i>A. ilicifolius</i>) ága	Cui és mtsai 2017
		<i>Fusarium graminearum</i>	1	-	n. m.	Frandsen és mtsai 2016
		<i>F. haematococcum</i> (<i>Nectria haematococca</i>)	1	-	n. m.	Parisot és mtsai 1989
		<i>F. solani</i>	1	endofiton	<i>Centella asiatica</i> kérge	Moni és mtsai 2022
			1	-	mélytengeri üledék	Lin és mtsai 2023
		<i>Lophiostoma</i> sp.	1	endofiton	<i>Eucalyptus exserta</i> egészséges ága/termése	Mao és mtsai 2021
		<i>Nigrograna</i> sp. ← Pleosporales sp.	1	endofiton	<i>Berberis fortunei</i> (<i>Mahonia fortunei</i>) kocsánya	Yang és mtsai 2021
		<i>N. antibiotica</i> (<i>Biatriospora antibiotica</i>)	1	endofiton	<i>Ulmus laevis</i> egészséges ága	Stodůlková és mtsai 2015, Kolařík és mtsai 2017
		<i>Ulospora bilgramii</i>	1	-	<i>Umbilicaria</i> sp. zuzmó	Xie és mtsai 2020
23	epikokkamid A	<i>Epicoccum</i> sp.	1	-	<i>Pholiota squarrosa</i> gomba	Wangun és mtsai 2007
			1	endofiton	<i>Theobroma cacao</i> kérge/levele	Talontsi és mtsai 2013
			1	n. m.	azonosítatlan gyógynövény	Zhang és mtsai 2022
		<i>E. nigrum</i> (<i>E. purpurascens</i>)	1	-	<i>Aurelia aurita</i> medúza	Wright és mtsai 2003
			1	-	<i>Tethya aurantium</i> tengeri szivacs	Wiese és mtsai 2011
			1	endofiton	<i>Salix</i> sp. egészséges levele	Harwoko és mtsai 2020
			1 ^a	-	n. m.	Choi és mtsai 2022, Kwon és mtsai 2023
		<i>Phomopsis</i> sp.	1	endofiton	azonosítatlan növény szára	Gakuubi és mtsai 2022
24	F2928-1	<i>Hypomyces pseudocorticicola</i>	1	-	<i>Trametes versicolor</i> gomba	Kanai és mtsai 2005
			1	-	(elhalt) termőteste	Watanabe és mtsai 2022
25	fomopszidin	<i>Alternaria</i> sp.	1	endofiton	<i>Datura stramonium</i> levele	Tapfuma és mtsai 2019
		<i>Auricularia cornea</i>	(3)	-	n. m.	Ye és mtsai 2024
		<i>Hypoxylon cercidicola</i>	1	endofiton ^c	<i>Hypoxylon</i> fajokra jellemző termőtestekkel borított, első-sorban <i>Fraxinus</i> ágak	Pourmoghaddam és mtsai 2020
		<i>H. perforatum</i>	2			
		<i>H. petriniae</i>	1			

		<i>H. rubiginosum</i>	12			Halecker és mtsai 2020, Pourmoghaddam és mtsai 2020
		<i>H. aff. rubiginosum</i>	2			Pourmoghaddam és mtsai 2020
		<i>Phomopsis</i> sp.	1	n. m.	azonosítatlan mangrove korall- zátonyra (vízbe) esett ága	Namikoshi és mtsai 1997
			1	endofiton	<i>Endodesmia calophylloides</i> kérge/levele	Talontsi és mtsai 2012
		Pleosporales sp.	1	endofiton	<i>Fucus vesiculosus</i> barnamo- szat	Fan és mtsai 2019
		<i>Pyrenochaeta</i> sp.	1	endofiton	<i>Annona squamosa</i> ága	Lin és mtsai 2011
		<i>Eunicella cavolini</i>	-	-	-	Matulja és mtsai 2021
26	aszkomikon A	<i>Aspergillus terreus</i>	1 ^a	-	n. m.	Tang és mtsai 2022
		<i>Biatrispora</i> sp.	1	-	<i>Pseudocyphellaria</i> sp. zuzmó	Zhou és mtsai 2016
		<i>Nigrograna</i> sp. ← azonosítatlan tömlősgomba	1	n. m.	azonosítatlan növény elhalt ágának kérge	Opatz és mtsai 2008
		<i>N. antibiotica</i> (<i>Biatrispora antibiotica</i>)	1	endofiton	<i>Ulmus laevis</i> egészséges ága	Stodůlková és mtsai 2015, Kolařík és mtsai 2017
		<i>Ulopora bilgramii</i>	1	-	<i>Umbilicaria</i> sp. zuzmó	Xie és mtsai 2020
28	F2928-2	<i>Cladobotryum</i> sp.	1	n. m.	kötiszafa erdőben lehullott ág	Mitova és mtsai 2006, Dao és mtsai 2022
		<i>Hypomyces pseudocorticicola</i> [anamorf: <i>Cladobotryum</i>]	1	-	<i>Trametes versicolor</i> gomba	Kanai és mtsai 2005
			1	-	(elhalt) termőteste	Watanabe és mtsai 2022
29	epikokkamid D	<i>Epicoccum</i> sp.	1	-	<i>Pholiota squarrosa</i> gomba	Wangun és mtsai 2007
		<i>Phomopsis</i> sp.	1	endofiton	azonosítatlan növény szára	Gakuubi és mtsai 2022

A táblázatban kurrens fajnevek vannak feltüntetve, azok hivatkozott szakirodalmakban előforduló megfelelői zárójelben szerepelnek. A kurrens fajnevek gombák esetében az *Index Fungorum*, növények esetében pedig a *World Flora Online* internetes adatbázisokból származnak.

A vegyületek nemzetség szinten általunk azonosított forrásai félkövér, a hivatkozott szakirodalmakban szereplő megjelöléseik pedig szürke betűvel vannak jelölve.

A jellemzően gombák termelte vegyületek növényi forrásai zöld, a *Padonia pavonica* barnamoszat és az *Eunicella cavolini* korall pedig kék háttér színnel vannak jelölve.

A gombatörzsek száma zárójelben szerepel, ha a hivatkozott szakirodalomból csak a vizsgált törzsek száma (zárójelben megadva) derül ki egyértelműen.

A törzsek életmódja a növényi forrásból származó gombák esetében van megadva.

n. m.: nincs megadva

^a Törzsek száma a genetikailag (tovább) módosított változatokat nem számolva.

^b A törzsek életmódja nincs megadva, de a törzsek reprezentálta fajok jellemző életmódja és a hivatkozott szakirodalomban szereplő inokulációs kísérlet eredménye alapján a vizsgált törzsek növényi kórokozónak tekinthetők.

^c A *Hypoxylon* fajok, termőtesteket (látható tünet) csak az elhalt növényi részekben képezve, kolonizálhatnak endofitonként (Halecker és mtsai 2020, Pourmoghaddam és mtsai 2020).

^{d-g} A törzsek eredete nincs megadva, ugyanakkor a törzsek reprezentálta fajok gazdaszervezetei, feltételezhető forrásai (^d pázsitfűfélék (pl. *Digitaria* fajok, *Elymus repens* (*Agropyron repens*), *Cynodon dactylon*), ^e *Dactyloctenium aegyptium*, ^f *Echinochloa crus-galli*, ^g rovarok (pl. *Adelges piceae*)) a hivatkozott szakirodalomban meg vannak jelölve.

A petaszol észterszármazékai a vörös acsalapu (*Petasites hybridus*) intakt és porított gyöktörzsében idővel az izopetaszol analóg észterszármazékaivá alakulnak át (Debrunner és Neuenschwander 1995). Hasonlóan, tapasztalataink alapján a petaszol összetevőt tartalmazó porított *Darksidea* tenyészetekben a petaszol és az izopetaszol összetevők aránya idővel megváltozik az izopetaszol javára. Az átalakulás szabályozhatóvá tétele, vagyis az izopetaszol előállíthatósága érdekében az izolált petaszol összetevőt különböző kezeléseknak vetettük alá. A petaszol vizes és lúgos (0,2 M ammónium-hidroxid oldat) közegben, 100 °C hőmérsékleten, 15 percig tartó kezelése eredményeként a petaszol koncentrációja a kezeletlen petaszol oldat koncentrációjához (0,1 mg/mL) képest a tizedére csökkent, izopetaszol kismértékű keletkezése mellett. A petaszol savas (0,2 M trifluorecetsav oldat (TFE)) közegben történő kezelése során a petaszol koncentrációja már kevésbé csökkent, ráadásul, nagyobb mennyiségű izopetaszol keletkezett. Míg a petaszol és a keletkezett izopetaszol koncentrációjának összege a vizes és lúgos kezelést követően mindössze 0,017 és 0,029 mg/mL-nek, addig a savas kezelést követően 0,095 mg/mL-nek adódott (22., F.12.A–D ábrák). Következésképpen, vizes és lúgos közegben a petaszol jelentősen bomlik, savas közegben azonban izopetaszol alakul ki belőle, a petaszol és az izopetaszol számottevő bomlása nélkül. Ebből kiindulva, az izopetaszol előállításának optimalizálása céljából, a petaszol összetevőt különböző töménységű (0,2 és 2,0 M) TFE oldatokkal, különböző időtartamokon (7,5, 15, 30 és 60 perc) keresztül kezeltük. Eredményeink alapján, a 0,2 M TFE oldat alkalmazásával 60 perc, míg a 2,0 M TFE oldat alkalmazásával 15 perc elteltével keletkezik legnagyobb koncentrációban az izopetaszol (0,088 mg/mL és 0,097 mg/mL). A 2,0 M TFE oldatot 60 percig alkalmazva a petaszol és a keletkezett izopetaszol jelentős mértékben bomlanak, mivel koncentrációik összege csupán 0,065 mg/mL-nek adódott (23., F.12.A, E–L ábrák).

Kísérleteinkkel sikerült megoldanunk és optimalizálnunk az izopetaszol előállítását a *Darksidea* tenyészetekben jellemzően nagy mennyiségben előforduló petaszol összetevőből. Az előállítás legjobb módjának a petaszol 2,0 M TFE oldattal, 100 °C hőmérsékleten, 15 percig történő kezelése bizonyult.

A petaszol észterszármazékainak a vörös acsalapu gyöktörzsében, illetve a petaszol *Darksidea* tenyészetekben megfigyelt átalakulása akár enzimatisz izomerizáció eredménye is lehetne. Az izolált petaszol enzimmentes környezetben történő átalakításával azonban bebizonyítottuk, hogy az átalakulás nem enzimatisz izomerizáció eredménye.

5.2 Csiperketermesztésre szolgáló komposzt – endofiton gombák és vegyületek

5.2.1 Endofiton gombák azonosítása

5.2.1.1 Jellemző növényi alapanyagok endofiton gombái

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt különböző növényi alapanyagaiból (búza-, biobúza-, árpa- és repceszalma, valamint napraforgó termésfal) egyaránt sikerült endofiton gombákat izolálnunk. Az izolátumok többsége az Ascomycota törzset reprezentálta, nemcsak összességében, hanem növényi alapanyagoként külön-külön is. Az Ascomycota törzsen belül elsősorban a Dothideomycetes osztály, azon belül pedig kizárólag a Pleosporales rend képviseltette magát, a szalmaminták mindegyikéből kiemelkedő számban azonosított *Alternaria* izolátumok révén. A feleannyi izolátum reprezentálta Sordariomycetes osztályon belül, ha nem is mindegyik szalmamintából, de a Glomerellales, Hypocreales, Sordariales és Xylariales rendek képviselőit egyaránt azonosítottuk, legnagyobb számban a *Fusarium* nemzetség szalmaminták mindegyikéből előkerült képviselőit (2. táblázat).

Az élő búza, árpa és repce – akár endofiton – gombaközösségeinek összetételét több ízben is tanulmányozták (Blaszczyk és mtsai 2021, Ignatova és mtsai 2021, Schmidt és mtsai 2021). Ezzel szemben, e növények különböző tevékenységek során felhasznált szalmájának gombaközösségeivel alig foglalkoztak (Magan 1988). Repceszalmából, a legjobb tudásunk szerint, mi izoláltunk és azonosítottunk gombákat elsőként.

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt gombaközösségének a komposztgyártás előrehaladtával bekövetkező változásait nyomon követő tanulmányok elvétele számolnak be a kiindulási alapanyagként szolgáló búzaszalma gombaközösségének összetételéről (Straatsma és mtsai 1994, Zhang és mtsai 2014, Thai és mtsai 2022). Straatsma és mtsai (1994) búzaszalmából elsősorban az *Aspergillus*, *Lichtheimia* és *Rhizomucor* nemzetségek jellemzően gyorsnövésű és rövid időn belül sporuláló képviselőit izolálták. Bár az izolátumaink körében e nemzetségek kevésbé, vagy egyáltalán nem reprezentáltatták magukat, megjegyzendő, hogy Straatsma és mtsai (1994) a mindössze steril vízzel mosott növényi részeket az általunk használttól eltérő típusú táptalajon, termofil gombák izolálása céljából 45 °C-on inkubálták (Straatsma és mtsai 1994). Zhang és mtsai (2014), a búzaszalma gombaközösségét tenyésztésfüggetlen módszerrel meghatározva, hozzánk hasonlóan, a tömlősgombák dominanciáját tapasztalták. Esetükben a Hypocreales rendbe tartozó *Acremonium* nemzetség bizonyult meghatározónak, ugyanakkor az izolátumaink

által döntően reprezentált *Alternaria* nemzetség is számottevő mértékben képviseltette magát (Zhang és mtsai 2014). Thai és mtsai (2022), a búzaszalma gombaközösségét szintén tenyésztésfüggetlen módszerrel tanulmányozva, zömmel tömlősgombákat, elsősorban a *Hypoderma* (Rhytismatales, Leotiomycetes), *Davidiella* (Capnodiales, Dothideomycetes), *Pyrenophora* és *Lewia* (Pleosporales, Dothideomycetes) nemzetségeket reprezentáló szekvenciákat azonosítottak (Thai és mtsai 2022). Ezek közül esetünkben, egyedül a *Pyrenophora* nemzetség képviseltette magát, az is csak egyetlen, valójában biobúzából származó izolátum formájában. A búza eredetű izolátumaink körében erősen reprezentált *Alternaria* nemzetség nem bizonyult domináns előfordulásúnak (Thai és mtsai 2022), ugyanakkor megjegyzendő, hogy a szekvenciák nagyobb hányada által képviselt *Lewia* nemzetségbe valójában egyes *Alternaria* fajok ivaros alakjai tartoznak (Li és mtsai 2023).

A saját, valamint a fenti tanulmányokban bemutatott eredmények között tapasztalt eltérések a különböző módszerek alkalmazásán túl adódhatnak az eltérő szalmaminták vizsgálatából is, a búza genotípusától és a búzát érő környezeti hatásoktól ugyanis egyaránt függ a búza endofiton gombaközösségének összetétele (Latz és mtsai 2021). A különféle gazdálkodási formák, így a hagyományos- és biogazdálkodás szintén befolyásolják a növények mikrobiális közösségének összetételét. Karlsson és mtsai (2017) például a biogazdálkodás keretében termesztett búza leveleinek gombaközösségeit fajgazdagabbnak találták (Karlsson és mtsai 2017). Bár csak egyetlen búza és biobúza mintát dolgoztunk fel endofiton gombák izolálására, a Mucoromycota törzs képviselőinek gyakoribb előfordulása a biobúzából származó izolátumok körében említésre méltó, még akkor is, ha a *Rhizopus* izolátumokra például a biobúza mintában számottevő mennyiségben jelenlévő gyomnövényből tettünk szert. Szembetűnő különbséget azonban nem tapasztaltunk a Poaceae családba tartozó búza és árpa, illetve a Brassicaceae családba tartozó repce szalmájának izolátumaink reprezentálta endofiton gombaközösségei között, a különböző családokba tartozó növények, mikrobiális közösségeik összetételét is befolyásoló, eltérő kémiai összetétele ellenére (Pascault és mtsai 2010).

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt alapanyagaiként felhasznált búza-, biobúza-, árpa- és repceszalma mellett a komposztgyártás során hozzáadott csirketrágyában is megtalálható napraforgó terméshéjakból is izoláltunk endofiton gombákat. Bár a napraforgómagvak endofiton gombaközösségeit több alkalommal tanulmányozták (Balogun

és mtsai 2023), a legjobb tudásunk szerint, napraforgó terméshéjból mi izoláltunk és azonosítottunk endofiton gombákat elsőként. Azonosítottuk többek között az *Alternaria* nemzetség képviselőit, mely nemzetség a napraforgómagvakat kolonizáló gombák körében rendszerint kiemelkedő mértékben reprezentáltatja magát (Balogun és mtsai 2023).

5.2.1.2 Komposztgyártás során azonosított endofiton gombák

Mivel a komposzt jellemző növényi alapanyagaiból (búza-, biobúza-, árpa- és repceszalma, napraforgó terméshéj) sikerült endofiton gombákat izolálnunk, a komposztgyártás folyamatát többször is nyomon követve, további, a gyártás különböző lépéseit reprezentáló mintákat is feldolgoztunk endofiton gombák izolálására. A minták magukban foglalták a technológiai vízben ázott növényi alapanyagokat, a hozzáadott szalmás csirke- és lótrágyát, illetve a különböző első, második és harmadik fázisú komposztmintákat (1. ábra, 1. táblázat).

A technológiai vízben ázott búza-, árpa- és repceszalmából, ha nem is minden egyes mintájukból, de egyaránt sikerült endofiton gombákat izolálnunk. A zömmel ázott búzából származó izolátumok döntő többsége az Ascomycota törzsbe, azon belül azonban, a jellemző nyers növényi alapanyagokból származó izolátumok többségével ellentétben nem a Dothideomycetes, hanem a Sordariomycetes és Eurotiomycetes osztályokba tartozik. A már a nyers szalmamintákból származó izolátumok körében is számottevő mértékben reprezentált *Fusarium* nemzetségen kívül, a szintén a Hypocreales rendbe tartozó *Trichoderma*, valamint az Eurotiales rendbe tartozó *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetségek képviselőit is jó néhányszor izoláltuk (3., F.4. táblázatok).

A komposztgyártás első lépéseként a búza-, árpa- és repceszalmát a komposzthalmokból szivárgó, mikroorganizmusokban gazdag technológiai vízzel itatják át. Az átnedvesedett szalmában mezofil, jellemzően gyorsan növekvő és sporuláló gombák, például *Aspergillus* és *Rhizomucor* fajok szaporodnak fel (Kertész és Thai 2018). Az ázott szalmamintákból származó izolátumaink körében, ennek megfelelően, az *Aspergillus*, *Penicillium* és *Trichoderma* nemzetségek erősebben is reprezentáltatták magukat. Cao és mtsai (2019), a csiperketermesztésre szolgáló komposzt alapanyagaként felhasznált, már benedvesített búzaszalma gombaközösségének összetételét tenyésztésfüggetlen módszerrel meghatározva, hozzánk hasonlóan, a tömlősgombák dominanciáját tapasztalták, ugyanakkor számottevő mennyiségben azonosítottak bazídiumos gombákat is. A Pleosporales rendbe tartozó *Alternaria* és *Pyrenophora* nemzetségek mutatkoztak meghatározónak, melyek

képviselőit mi jellemzően a nyers növényi alapanyagokból, nem pedig az ázottakból izoláltuk. Igaz, míg mi a szalma technológiai vízbe merítését követő negyedik napon vettük mintáinkat, addig Cao és mtsai (2019) esetében nem ismert a szalma benedvesítése és a mintavétel között eltelt idő, illetve az sem, hogy a nedvesítéshez mikroorganizmusokban gazdag technológiai vizet használtak-e. Ezek a tényezők egyaránt befolyásolhatják az ázott szalma gombaközösségének összetételét. Thai és mtsai (2022), a technológiai vízzel 24 és 72 órája átitatott búzaszalma gombaközösségét tenyésztésfüggetlen módszerrel tanulmányozva a *Lewia*, néhány nappal később pedig a *Myceliophthora* (Sordariales, Sordariomycetes) nemzetség domináns előfordulását tapasztalták (Thai és mtsai 2022). A négy napja beáztatott búzaszalmából származó izolátumaink körében e nemzetségek nem reprezentálták magukat, igaz, a *Lewia* nemzetség szinonimájaként kezelhető *Alternaria* nemzetség egy képviselőjét mi is azonosítottuk. Mindezek alapján megállapítható, hogy a technológiai vízzel átitatott szalma gombaközösségének összetételét még alapvetően nem a csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállításának erősen szabályozott, a komposzt mikrobiális közösségeinek eltérő alapanyagok esetén is hasonló összetételét determináló volta, hanem a szalmaminták különbözősége határozza meg.

A komposztgyártás során hozzáadott csirke- és lótrágyából, endofitonokra szűrve a bennük lévő szalmából, igen eltérő mértékben sikerült gombákat izolálnunk. Míg a lótrágyából közel 30, addig a csirke-trágyából mindössze egyetlen izolátumra tettünk szert (3., F.4. táblázatok).

Bár a csirke-trágya alapú komposzt mikrobiális közösségének összetételéről és annak a komposzt előállítása során bekövetkező változásairól több tanulmány is beszámol, azokban, még ha szalmával kevert csirke-trágya is kerül felhasználásra, az általunk vett mintákhoz hasonló, még érintetlen csirke-trágya mikrobiális közösségéről ritkán esik szó. Xie és mtsai (2021a), szalmával kevert csirke-trágya komposztálásának kezdetén vett minta gombaközösségének összetételét tenyésztésfüggetlen módszerrel meghatározva, a tömlősgombák dominanciáját, valamint minden bizonnyal az ürülekéből származó állati kórokozó és endoszimbionta gombák gyakori előfordulását tapasztalták (Xie és mtsai 2021a). A csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállítása során felhasznált szalmás csirke-trágyából, a legjobb tudásunk szerint, mi próbáltunk elsőként gombákat izolálni. Az, hogy a különböző gyártási sorokból származó mintákból összesen egy izolátumra tettünk szert, magyarázható a csirke-trágya, más típusú trágyákhoz képest kiemelkedően magas nitrogéntartalmával. A csirke-trágyában a teljes nitrogéntartalom egy számottevő

hányada ammónia formájában van jelen, az ammónia pedig gátolja a gombák növekedését (DePasquale és Montville 1990, Ashworth és mtsai 2020). A csirketrágyában lévő szalma szöveteit is átjárhatta az ammónia, gátolva a táptalajra helyezett növényi részekben előforduló, még életképes gombák növekedését.

A lótrágya esetében a különböző gyártási sorokból származó minták zöméből sikerült endofiton gombákat izolálnunk. Ezek – mintától függően akár fele-fele arányban – az Ascomycota, valamint a nyers és ázott szalmamintákból származó izolátumok körében még kevésbé reprezentált Mucoromycota törzsekbe tartoznak. Straatsma és mtsai (1994) csiperketermesztésre szolgáló komposztból és alapanyagaiból termofil gombákat izolálva, lótrágyából azonosították az Ascomycota törzsbe tartozó *Mycothermus thermophilus* (*Scytalidium thermophilum*) és *Thermothielavioides terrestris* (*Thielavia terrestris*) fajok képviselőit (Straatsma és mtsai 1994).

A növényi alapanyagokon és a trágyamintákon túl különböző első, második és harmadik fázisú komposztmintákat is feldolgoztunk endofiton gombák izolálása céljából (1. ábra, 1. táblázat). A legtöbb komposztmintából sikerült is endofiton gombákat izolálnunk. A hat nyomon követett gyártási sor komposztmintáiból származó izolátumokat össze-sítve, azok száma a komposztgyártás előrehaladtával, a gyenge felszínsterilizálás vagy annak elhagyása ellenére, az első fázis során csökkent, a második fázis végén azonban ismét magasabban alakult. Az izolátumok körében összességében, gyártási soronként (S1–S6), lépésenként (bunkertöltés, első és második átrakás, kiszedés, áttárolás és kitárolás), de néhány kivételtől eltekintve még az egyes minták esetében is a tömlősgombák domináltak. Az Ascomycota mellett a Mucoromycota törzs képviselőire tettünk még szert, kizárólag első fázisú komposztmintákból, a gyártás előrehaladtával egyre kisebb számban (3., F.4. táblázatok). Bár a Basidiomycota törzsbe tartozó csiperke a vele átszővetett komposztminták (kitárolás) táptalajra helyezett növényi részeiből jellemzően növekedésnek indult, tenyészeit nem izoláltuk, mivel e faj beoltás következtében, nem pedig endofitonként van jelen a harmadik fázisú komposztban. A komposztgyártás előrehaladtával, a különböző fázisú komposztmintákból származó izolátumok körében más-más osztályok, rendek, illetve nemzetségek reprezentáltatták magukat dominánsan.

Az első fázisú komposztmintákból származó izolátumok körében az Eurotiales rend (Eurotiomycetes) dominált, köszönhetően az *Aspergillus* izolátumok gyakori előfordulásának. Míg az Eurotiales, valamint a még számottevő mértékben reprezentált Hypocreales (Sordariomycetes) és Mucorales (Mucoromycetes) rendek képviselőinek száma az

első fázis előrehaladtával csökkent, addig a Sordariales rend (Sordariomycetes) hasonló mértékben reprezentáltatta magát az első fázis elején és végén, zömmel a bunkertöltésből származó *Chaetomium*, illetve a kisedésből származó *Mycothermus* izolátumok révén (3. táblázat).

Irodalmi adatok alapján, az első fázis során, a könnyen hozzáférhető tápanyagokon felszaporodó mezofil mikroorganizmusok anyagcseréje révén hő szabadul fel, az így felmelegedő komposztban pedig a mezofil mikroorganizmusok helyett egyre inkább a termofil mikroorganizmusok válnak meghatározóvá. A gombák körében kezdetben jellemzően a komplex szerves tápanyagokat lebontani nem képes *Thermomyces lanuginosus* és *Thermomyces dupontii* fajok, a későbbiekben pedig a cellulóz és hemicellulóz lebontására egyaránt képes *Chaetomium thermophilum* és *Mycothermus thermophilus* fajok szaporodnak fel (Straatsma és mtsai 1994, Kertész és Thai 2018). Az irodalmi adatokkal összhangban, az ázott szalma és a csirketrágya összekeverését követően az *Aspergillus* nemzetség és a Mucorales rend jellemzően mezofil képviselői, a bunkertöltésből származó izolátumaik száma alapján jelentős mértékben felszaporodtak, az első fázis előrehaladtával azonban, köszönhetően a bunkerekben kialakuló magas hőmérsékletnek, egyre kevésbé reprezentáltatták magukat. Mindemellett, bár a komplex szerves tápanyagok lebontására nem képes, fent nevezett termofil fajok képviselőit nem sikerült izolálnunk, az első fázis végén vett mintákból (kisedés) a cellulóz és hemicellulóz lebontására egyaránt képes *Mycothermus thermophilus* faj több izolátumára is szert tettünk.

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt mikrobiális közösségének a gyártás előrehaladtával bekövetkező változásait újgenerációs szekvenálási módszerekkel nyomon követő tanulmányok keretében rendszerint meghatározzák az első fázisú komposzt mikrobiális összetételét, azonban jellemzően csak a fázis egyetlen pontján vett minták vizsgálata alapján (Zhang és mtsai 2014, Carrasco és mtsai 2020, Thai és mtsai 2022). Cao és mtsai (2019), hozzánk hasonlóan az első fázis több pontján vett minták alapján jellemezték a komposzt mikrobiális összetételét. F1, F2 és F3 mintáikat a komposzthalmok mozgatásakor, az első fázis ötödik, kilencedik és tizenkettedik napján vették. E minták megfeleltethetők az első és második átrakásból, valamint a kisedésből vett mintáinknak. Cao és mtsai a rendszerint dominánsan jelenlévő tömlősgombák mellett számottevő mértékben mutattak ki bazídiumos gombákat is, F1 mintában a tömlősgombákéval megegyező mennyiségben. F2 és F3 mintákban a Chytridiomycota törzs is érdemben reprezentáltatta magát. Míg F1 mintában a *Gibellulopsis*, addig F2 és F3 mintákban a *Chaetomium* nemzetség mutatkozott dominánsnak, F1 mintában az *Alternaria*, F2 mintában a *Microidium*

és *Gonapodya*, F3 mintában pedig a *Gibellulopsis*, *Gonapodya* és *Mycothermus* nemzetségek érdemi előfordulása mellett (Cao és mtsai 2019). Az általunk vett első fázisú komposztmintákból származó izolátumok döntő többsége az Ascomycota törzsbe tartozik, a Basidiomycota és Chytridiomycota törzsek egyetlen képviselőjét sem sikerült izolálnunk. A fent nevezett *Alternaria*, *Chaetomium* és *Mycothermus* nemzetségek néhány képviselője mellett azonban számottevő mennyiségben izoláltuk a Cao és mtsai által nem azonosított *Aspergillus* nemzetség képviselőit, még akkor is, ha csak a Cao és mtsai által vett F1, F2 és F3 mintáknak megfeleltethető első fázisú mintáinkat vesszük figyelembe. Zhang és mtsai (2014), az első fázisú komposzt mikrobiális összetételét a legmagasabb komposzthőmérséklet idejében vett minta alapján meghatározva a tömlősgombák dominanciáját, valamint a *Thermomyces*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Microascus* és *Humicola* (valójában *Mycothermus*) nemzetségek számottevő előfordulását tapasztalták (Zhang és mtsai 2014). Ezek közül a *Mycothermus*, de különösen az *Aspergillus* nemzetség képviselőit izoláltuk az első fázisú komposztból, a többinél tömegesebb előfordulásának bizonyult *Thermomyces* nemzetség képviselőit nem. Zhang és mtsai a komposzt alapanyagául szolgáló szalmában még érdemben reprezentált Dothideomycetes osztály képviselőit az első fázisú komposztból már nem tudták kimutatni, nekünk azonban sikerült szert tennünk ezen osztály különböző rendjeit és nemzetségeit reprezentáló néhány, zömmel *Cladosporium* izolátumra. Ettől eltekintve, a tömlősgombákon belül, Zhang és mtsai azon osztályokat (*Eurotiomycetes*, *Saccharomycetes* és *Sordariomycetes*) azonosították az első fázisú komposztban, melyek különböző képviselőit izoláltuk is az általunk gyűjtött mintákból. Carrasco és mtsai (2020), az első fázisú komposzt mikrobiális összetételét az első fázis végén vett minta alapján meghatározva, a tömlősgombák kiemelkedő dominanciáját, továbbá a Basidiomycota és Glomeromycota törzsek csekély mértékű előfordulását tapasztalták (Carrasco és mtsai 2020). Thai és mtsai (2022) szintén a tömlősgombák dominanciájáról, azon belül pedig a *Penicillium*, *Thermomyces* és az izolátumaink körében tömegesen reprezentált *Aspergillus* nemzetség számottevő előfordulásáról számolnak be (Thai és mtsai 2022). Az izolátumaink nem elhanyagolható hányada által reprezentált Mucoromycota törzs jelenlétét Zhang és mtsai (2014), Cao és mtsai (2019), illetve Carrasco és mtsai (2020) sem mutatták ki az első fázisú komposztból. Azonosítottak azonban, ha nem is számottevő mértékben, a járomspórás gombák törzsét (*Zygomycota*) reprezentáló szekvenciákat. Mivel a ma már érvénytelennek tekintett *Zygomycota* törzsből kerülnek ki a Mucoromycota törzs képviselői is, elképzelhető, hogy az utóbbiakat, hozzánk

haszonlóan, a fenti tanulmányok keretében is kimutatták, csak a gombák egy szélesebb körét magába foglaló, ma már nem létező Zygomycota törzs képviselőiként.

Amíg az első fázisú komposztmintákból származó izolátumaink körében az Eurotiales rend (Eurotiomycetes) dominált, mely mellett további rendek is számottevő mértékben reprezentálták magukat, addig a második fázisú, hőkezelt mintákból szinte kizárólag a Sordariales rendbe (Sordariomycetes) tartozó *Mycothermus thermophilus* képviselőire tettünk szert (6.G ábra, 3. táblázat). Az irodalmi adatok alapján, a második fázis során egyes cellulóz- és hemicellulóz-bontó gombák szaporodnak fel, csökkentve a gombák sokféleségét az első fázishoz képest (Kertesz és Thai 2018). A *Torula thermophila*, *Humicola grisea* var. *thermoidea*, *Humicola insolens* és *Scytalidium thermophilum* néven is ismert *M. thermophilus* (Wang és mtsai 2019) a második fázisú komposztban leggyakrabban azonosított termofil gombafaj (Kertesz és Thai 2018). Izolátumai számos szénhidrát-bontó, így például celluláz és hemicelluláz enzimet (Basotra és mtsai 2016), illetve biológiailag aktív másodlagos anyagcsereterméket (Yang és mtsai 2020b) állítanak elő, továbbá serkentik a hőkezelt komposztba oltott csiperke növekedését (Straatsma és Samson 1993). Az első és hatodik gyártási sor második fázisú komposztmintájából (áttárolás) a *M. thermophilus* képviselőit nem sikerült izolálnunk, mindössze egyetlen *Aspergillus* izolátumra tettünk szert az első gyártási sor áttárolásából (F.4. táblázat). Abban az esetben, ha a komposzt alapanyagainak a mikroorganizmusok hőfelszabadulással járó anyagcserefolyamatainak köszönhető felmelegedése nem elégséges, előfordulhat, hogy a *M. thermophilus* alig izolálható a komposztból (Straatsma és mtsai 1994). Tekintettel arra, hogy különösen az első gyártási sor áttárolása esetében, a táptalajra helyezett növényi részek körül szokatlanul kiterjedt baktériumtelepek fejlődtek, a *M. thermophilus* tenyészetek megjelenésének hiánya betudható akár egyes, e faj növekedését gátló baktériumok tömegesebb, vagy az azt inkább elősegítő baktériumok ritkább előfordulásának is.

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt mikrobiális közösségének a gyártás előrehaladtával bekövetkező változásait újgenerációs szekvenálási módszerekkel nyomon követő tanulmányok, a második fázisú komposzt esetében az Ascomycota törzs dominanciájáról, illetve tanulmánytól függően, a Basidiomycota, Chytridiomycota és Zygomycota törzsek előfordulásáról számolnak be. Az azonosított nemzetségek közül rendszerint a *Mycothermus* dominál, mely mellett, tanulmánytól függően, a *Chaetomium*, *Gonapodya* és *Myceliophthora* nemzetségek reprezentálják magukat számottevő mértékben (Zhang és mtsai 2014, Cao és mtsai 2019, Carrasco és mtsai 2020, Thai és mtsai 2022).

Bár Zhang és mtsai (2014) a *Humicola* nemzetséget tekintik dominánsnak, az a nyilvános *Humicola grisea* ITS szekvencia, melyhez a második fázisú komposztban dominánsan előforduló szekvenciák a tanulmány keretében készített filogenetikai fán a legközelebb állnak, valójában *Mycothermus thermophilus* ITS szekvenciaként azonosítható. Továbbá, a dominánsnak tekintett *H. grisea* fajjal kapcsolatban a tanulmány által hivatkozott irodalmak is a ma *M. thermophilus* néven ismert *Scytalidium thermophilum* és *Humicola grisea* var. *thermoidea* gombákról szólnak.

Mivel a második fázisú komposztból származó izolátumaink körében a *Mycothermus* nemzetség reprezentálja magát szinte kizárólagosan, eredményeink, függetlenül a feldolgozott minták és az alkalmazott módszerek tekintetében fennálló különbségektől, jól összeegyeztethetők a fenti tanulmányokban közölt eredményekkel.

A csiperketermesztésre kész, harmadik fázisú komposzt (kitárolás) táptalajra helyezett növényi részeiből legtöbbször növekedésnek indultak a Basidiomycota törzsbe tartozó *Agaricus bisporus* micéliumai (6.H ábra). Mivel azonban e faj beoltás következtében, nem pedig endofitonként van jelen a harmadik fázisú komposztban, tenyészeit nem izoláltuk, az eredmények összesítésekor figyelmen kívül hagytuk. A nyomon követett hatodik gyártási sor kitárolásának táptalajra helyezett növényi részeiből a csiperke egyáltalán nem, a *Penicillium* nemzetség képviselői azonban jelentős számban növekedésnek indultak (6.I ábra, F.4. táblázat). Mivel ugyanezen gyártási sor második fázisú komposztjából nem sikerült szert tennünk a csiperke növekedését serkentő *Mycothermus thermophilus* izolátumaira, elképzelhető, hogy e faj nem kellően tömeges előfordulása, esetleg más mikroorganizmusok által gátolt növekedése hozzájárulhatott a csiperke általi gyébrebb kolonizációhoz, vagy akár a csiperkét gátló mikroorganizmusok felszaporodásához. Igaz, míg az első gyártási sor második fázisú komposztjából sem tettünk szert *M. thermophilus* izolátumokra, addig ugyanezen gyártási sor harmadik fázisú komposztjából növekedésnek indult a csiperke (F.4. táblázat).

A harmadik fázisú komposzt gombaközösségének összetételét több, a komposzt mikrobiális közösségeinek a komposztgyártás és csiperketermesztés előrehaladtával bekövetkező változásait nyomon követő tanulmány keretében is vizsgálták (Zhang és mtsai 2014, Siyoum és mtsai 2016, McGee és mtsai 2017, Carrasco és mtsai 2019, 2020, Thai és mtsai 2022). Ezek a döntően újgenerációs szekvenálási módszereket alkalmazó tanulmányok rendszerint a Basidiomycota törzs dominanciájáról számolnak be, mely a komposztba oltott csiperke általi kolonizáció következménye. Siyoum és mtsai (2016) a harmadik fázisú

komposzt szuszpenzióját táptalajon szélesztve különböző élesztő, valamint hozzánk hasonlóan, *Penicillium* izolátumokra tettek szert (Siyoun és mtsai 2016). Carrasco és mtsai (2020) a második fázisú komposztban domináns *Mycothermus* nemzetség előfordulását a harmadik fázisú komposztból is kimutatták, igaz, elenyésző mértékben (Carrasco és mtsai 2020). Thai és mtsai (2022) a *Mycothermus* nemzetség domináns előfordulását tapasztalták, igaz, mintájukat a csiperkével történő átszövetés félidejében vették (Thai és mtsai 2022). Esetünkben, a második fázisú komposzt táptalajra helyezett növényi részeiből rendszerint növekedésnek indult *M. thermophilus* a csiperketermesztésre alkalmas harmadik fázisú komposzt mindössze egyetlen gyártási sorból származó egyetlen növényi részéből került elő. Amellett tehát, hogy az *A. bisporus* bazídiumos gomba rendszerint tömegesen megjelent tenyészeinek kizárásából adódóan az izolátumaink messze nem tükrözik a harmadik fázisú komposzt teljes gombaközösségének összetételét, eredményeink és a szakirodalmi adatok között akadnak hasonlóságok.

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt és növényi alapanyagai mikrobiális közösségeinek összetételéről szóló tanulmányok ismeretében elmondható, hogy munkánk során a csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállítását (endofiton) gombák izolálása céljából elsőként követtük végig, a nyers növényi alapanyagoktól egészen a harmadik fázisú, kész komposztig. Szintén elsőként, a komposztgyártás folyamatát több alkalommal is nyomon követtük, a hasonló tanulmányokhoz képest a komposztgyártás számosabb lépését reprezentáló mintákat véve. Következésképpen, egyes növényi alapanyagokból és komposztmintákból, legyen szó a repceszalmáról, a napraforgó termésfaláról, a trágyában lévő alomszalmáról, vagy egyes első fázisú komposztmintákról, elsőként izoláltunk (endofiton) gombákat.

Eredményeink, a komposztgyártás előrehaladtával egyre inkább összhangban vannak a szakirodalmi adatokkal. Köszönhető mindez annak, hogy bár a növényi alapanyagok mikrobiális közösségeinek összetétele a növények és környezetük függvényében más és más, a csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállításának erősen szabályozott, a különböző komposztüzemekben hasonlóan zajló folyamata a gyártás előrehaladtával egyre hasonlóbb összetételű mikrobiális közösségek kialakulását eredményezi. Ugyan a harmadik fázisú komposztból származó izolátumaink nem tükrözik a kész komposzt szakirodalomból ismert mikrobiális összetételét, mindez csupán a nem endofitonként jelenlévő csiperke szakirodalomban nem jellemző kizárásából adódik.

5.2.2 Endofiton gombák in planta vizualizálása

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt növényi alapanyagait kolonizáló gombákat *in planta* vizsgálva, a búza-, biobúza-, árpa- és repceszalmában egyaránt, kiterjedt és sűrű kolonizációt tapasztaltunk (9. ábra). Gazdasági jelentőségük miatt, a termesztett növények elsősorban patogén gombák általi kolonizációja, annak mechanizmusa számos kutatás tárgyát képezi. E kutatások jellemzően csak a szóban forgó gomba általi kolonizációra összpontosítanak, akár steril körülmények között nevelt, az adott gombával inokulált növényeket alkalmazva (da Cruz és mtsai 2015). Ezzel szemben, mi a komposztgyártás növényi alapanyagait kolonizáló gombákat általánosan vizsgáltuk, nem az egyes gombák általi kolonizáció jellegzetességeire, hanem e növényi alapanyagok kolonizáltságának mértékére lévén kíváncsiak. A mikroorganizmusok gombatermesztésre szolgáló komposztban és növényi alapanyagaiban való vizualizációjával alig néhány tanulmány foglalkozik (pl. Atkey és Wood 1983), a növényi részek szerkezetében a komposztgyártás előrehaladtával bekövetkező változásokat nyomon követő tanulmányok pedig rendszerint nem foglalkoznak a növényi részek kolonizáltságával (pl. Wang és mtsai 2021). Atkey és Wood (1983) a csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállítását, a komposztot kolonizáló mikroorganizmusokat elektronmikroszkóppal vizualizálva követték nyomon, ami alapján a mikrobiális közösség összetételének a gyártás előrehaladtával bekövetkező, vizuálisan is tetten érhető változásairól számoltak be (Atkey és Wood 1983). Bár mi csak a növényi alapanyagokat kolonizáló gombákat vizualizáltuk, az általunk alkalmazott módszerekkel, valamint a búza-, biobúza-, árpa- és repceszalmára is kiterjedően, tettük mind ezt elsőként. Míg Atkey és Wood (1983) a kiindulási alapanyagként felhasznált búzaszalma esetében igen gyér kolonizációról számoltak be, addig mi kiterjedt és sűrű kolonizációt tapasztaltunk nem csak a búzaszalma, hanem az összes többi növényi alapanyag esetében is. Mindez az alkalmazott módszerek és a felhasznált növényi minták különbségére egyaránt visszavezethető.

A festett preparátumokat vizsgálva gyakran tapasztaltuk a gombák képezte struktúrák gyakoribb előfordulását a gázcsereenyílásokban és azok környékén (9. ábra). Ez nem szokatlan, mivel a gázcsereenyílások a gombák számára egyaránt szolgálhatnak a növénybe történő behatolás, illetve a kolonizációt követően, szaporító képleteik szabadba történő kijuttatásának pontjaiként (Brennan és mtsai 2019).

5.2.3 Vegyületek azonosítása

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt és növényi alapanyagai másodlagos anyag-cseretermékeinek vizsgálata során a búza- és árpaszalma kivonataiban öt fő összetevőt (31–35) detektáltunk (24.A ábra). Közülük az egyetlen, eltérő UV spektrummal rendelkező **33** a flavonoid típusú tricin (24.B, F.13.C ábrák). E vegyület a növényekben szabadon és származékai formájában egyaránt előfordul, az egyszikűek, így például a búza és az árpa esetében a lignin felépítésében is szerepet játszik (Li és mtsai 2015). A négy azonos UV spektrumú összetevő a tricin flavonolignán származékai, **31** és **34** a tricin-4'-O-(β -hidroxifenilgliceril)-éter, míg **32** és **35** a tricin-4'-O-(β -guajacilgliceril)-éter izomerjei (24.B, F.13.A, B, D, E ábrák, 9. táblázat). E két, eritro- és treo-izomerek formájában előforduló vegyület a tricin, valamint a lignin felépítésében alapvető szerepet játszó kumaril-alkohol (**31** és **34** esetében) vagy koniferil-alkohol (**32** és **35** esetében) éterkötésen keresztüli kapcsolódásával jön létre (Lan és mtsai 2015).

A búza- és árpaszalmában azonosított öt összetevőt a jellemzően búzaszalmát tartalmazó csirke- és lótrágyából is kimutattuk, a vegyületek trágyamintákban tapasztalt kisebb mennyisége az e minták esetében is kivonásra került 20 mg száraztömegű részletek, ürülék jelenlétéből adódó, alacsonyabb szalmatartalmának is betudható.

A tricin és származékainak mennyisége a komposztgyártás előrehaladtával már a szalma technológiai vízben történő áztatása és a csirketrágya hozzáadása következtében is jelentősen, az első fázis során azonban nagyságrendekkel csökkent. A második és harmadik fázis során e vegyületek mennyisége érdemben nem változott (10. táblázat). Bár a csiperketermesztésre szolgáló komposzt lignintartalmának a gyártás során bekövetkező változásait tanulmányozták már (Jurak és mtsai 2015, Carrasco és mtsai 2020), a legjobb tudásunk szerint mi követtük nyomon elsőként a lignin felépítésében (is) szerepet játszó tricin és származékainak a gyártás előrehaladtával bekövetkező mennyiségi változásait. A komposzt lignintartalma a növényi alapanyagokéhoz képest az első és második fázis során érdemben nem változik, a harmadik fázis során azonban, a ligninbontásra képes csiperke általi kolonizáció következtében, csökkenésnek indul (Jurak és mtsai 2015, Carrasco és mtsai 2020). Az, hogy ezzel szemben a tricin és azonosított származékainak mennyisége már az első fázis során jelentősen csökken, azt követően pedig gyakorlatilag stagnál, magyarázható azzal, hogy e vegyületek általunk alkalmazott módszerekkel kivonható és detektálható mennyiségét azok teljes mennyiségének csak egy, a lignin felépítésében szerepet nem játszó hányada adja. E hányad drasztikus és gyors fogyatkozása

hátterében a mikrobiális enzimek aktivitása (Gall és mtsai 2018, Yao és mtsai 2023), továbbá a komposztgyártás során többször, már a bunkertöltés előtt is kialakuló magas hőmérséklet, illetve a komposzt ingadozó kémhatása állhat.

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt növényi alapanyagaiból és a különböző fázisú komposztmintákból endofiton gombákat izolálva, a *M. thermophilus* faj tömeges előfordulását tapasztaltuk a második fázisú komposztban (6.G ábra, 3. táblázat). Erre, valamint e faj anyagcseretermékeinek a komposztban való esetleges felhalmozódására tekintettel, vizsgáltuk három, különböző gyártási sorokból származó *M. thermophilus* izolátum másodlagos anyagcseretermékeit. Mivel alapvetően a sok esetben lilás micéliumok összetételére voltunk kíváncsiak, a kiválasztott izolátumokat a tápanyagok felvételét nem gátló, ugyanakkor a micéliumok leválasztását lehetővé tévő, celofánnal fedett táptalajokon szaporítottuk fel. A micéliumok kivonataiban egy, az UV spektruma alapján a micéliumok lilás elszíneződéséért legalább részben felelős, fő összetevőt (36) detektáltunk, melyet aszterrikinon típusú vegyületként azonosítottunk (26.A, H, F.13.F ábrák).

A főként az *Aspergillus terreus* másodlagos anyagcseretermékeiként ismert aszterrikinon típusú vegyületek indolalkaloidok, melyek az alapvázhoz kapcsolódó funkciós csoportok felépítésében, számában és pozíciójában különböznek egymástól. Az általunk detektált összetevő, UV és MS adatai alapján (F.13.F ábra, 9. táblázat), több különböző aszterrikinon típusú vegyületként is azonosítható, így például az aszterrikinon CT3, CT4 és CT5 izomerekként (Li 2010). Ezek közül az aszterrikinon CT3 vegyületet egy talajmintából származó *Humicola grisea* izolátumból azonosították (Mocek és mtsai 1996). Bár korábban a *H. grisea* var. *thermoidea* a ma *M. thermophilus* néven ismert *Scytalidium thermophilum* fajhoz vagy fajkomplexhez lett sorolva (Straatsma és Samson 1993), a *H. grisea* jelenleg a *M. thermophilus* fajtól egyértelműen elkülönülő *Trichocladium griseum* fajként ismeretes (Wang és mtsai 2019), s az aszterrikinon CT3 vegyületet is, Mocek és munkatársaira hivatkozva, a *T. griseum*, nem pedig a *M. thermophilus* anyagcseretermékeként tartják számon (Tran-Cong és mtsai 2019). Ezek alapján, bár a *M. thermophilus* számos, különböző szerkezetű és hatású másodlagos anyagcseretermékét azonosították már (Yang és mtsai 2020b), aszterrikinon típusú összetevőt, legyen szó az aszterrikinon CT3 vegyületről vagy annak valamelyik izomerjéről, a legjobb tudásunk szerint mi azonosítottunk elsőként e faj kivonataiban.

5.3 Gyógynövények – endofiton gombák és vegyületek

5.3.1 Endofiton gombák azonosítása

A festő buzér (Rubiaceae), tövises iglice (Fabaceae) és tarackbúza (Poaceae) gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből, a legjobb tudásunk szerint, mi azonosítottunk elsőként endofiton gombákat (4., 5., 6. táblázatok). Eredményeink alapján az egyes gyógynövényekből származó izolátumok körében egy-egy rend, illetve nemzetség kiemelkedő mértékben reprezentáltatta magát, illetve egyes nemzetségek, fajok képviselőit mindhárom gyógynövényből izoláltuk.

A festő buzér és tövises iglice eredetű izolátumok (4., 5. táblázatok) körében egyaránt jelentős számban fordultak elő olyan, a Helotiales rendbe tartozó izolátumok, melyeket, ITS szekvenciáik nyilvános adatbázisokban elérhető szekvenciákkal való összevetésével, egyértelműen még csak nemzetség szintjén sem tudtunk azonosítani, tekintettel a leginkább felvetődött *Cadophora* nemzetség közelmúltban bekövetkezett revíziójára (Maciá-Vicente és mtsai 2020, Koukol és Maciá-Vicente 2022). Emiatt, ezen izolátumok általunk meghatározott, illetve a felvetődött nemzetségek reprezentatív fajainak nyilvános ITS szekvenciáival filogenetikai elemzést végeztünk. Ennek eredményeként megállapítottuk, hogy a szóban forgó izolátumok a *Cadophora* és *Leptodophora* nemzetségek képviselői, kisebb-nagyobb csoportjaik más-más fajokhoz állnak közelebb (8. ábra). A *Cadophora* nemzetséget (Ploettnerulaceae, Helotiales) az 1920-as években írták le, mely kezdetben fás szövetekben előforduló, szaprotróf vagy parazita életmódú, hasonló morfológiájú fajokat foglalt magába. Azóta számos, más-más környezetben előforduló, különböző életmódú és morfológiájú fajt soroltak e nemzetségbe, nem kielégítő filogenetikai elemzések eredményeire is hivatkozva (Koukol és Maciá-Vicente 2022). Maciá-Vicente és mtsai (2020), egy közel 100 *Cadophora* izolátum négy genetikai lokuszán alapuló filogenetikai elemzés alapján megállapították, hogy a *Cadophora* nemzetség parafiletikus, illetve kettő, a *Cadophora* sensu stricto (s.str.) és a *Cadophora* sensu lato (s.l.) kládra osztható (Maciá-Vicente és mtsai 2020). Az előbbi magában foglalja a nemzetség típusfaját (*C. fastigiata*) és a többi, hasonló életmódú és morfológiájú fajt, míg az utóbbi tartalmazza az összes többi *Cadophora* fajt, melyek közé a Ploettnerulaceae család különböző, így például az általunk készített filogenetikai fán is megjelenő *Collembolispora* és *Rhexocerosporidium* nemzetségei ékelődnek be. A *Cadophora* s.l. klád egy, a nemzetség típusfajától kiemelkedő mértékben különböző faja az eredetileg *Leptodontidium orchidicola* né-

ven leírt, orchideák gyökereiből izolált, később a *Cadophora* nemzetségbe sorolt *C. orchidicola*. Számos, gyökerekből származó izolátumot azonosítottak e faj képviselőjeként, azonban referenciaszekvencia hiányában, tekintettel a nyilvános adatbázisokban elérhető *L. orchidicola* és *C. orchidicola* szekvenciák tág intervallumon (94,5%–99,5%) belül alakuló hasonlóságára, ezen izolátumok *C. orchidicola* fajhoz való tartozása megkérdőjelezhető (Koukol és Maciá-Vicente 2022). Koukol és Maciá-Vicente (2022), a *C. orchidicola* faj filogenetikai helyzetét tisztázandó, meghatározták a *C. orchidicola* típus törzs különböző DNS régióinak szekvenciáit, majd ezeket és a korábbi tanulmányukból (Maciá-Vicente és mtsai 2020) rendelkezésükre álló szekvenciákat felhasználva újabb filogenetikai elemzést végeztek. Ennek eredményeként leírták a monofiletikus *Leptodophora* nemzetséget, melyben az immáron *Leptodophora orchidicola* mellett a korábban szintén a *Cadophora* nemzetségbe sorolt *Leptodophora echinata*, *Leptodophora gamsii* és *Leptodophora variabilis* fajok kaptak helyet. A *Leptodophora* nemzetségbe sorolt fajok, hasonlóan a filogenetikai elemzésünk alapján hozzájuk közel álló, egészséges föld alatti szervekből származó izolátumainkhoz, egyaránt gyökérkolonizáló, nem kórokozó mikroorganizmusok (Koukol és Maciá-Vicente 2022). Ez természetesen nem zárja ki, hogy ilyen mikroorganizmusok a változatos életmódú, elsősorban a *Cadophora* s.l. kládba tartozó fajok között is előforduljanak, ahogy azt az izolátumaink *Cadophora* és *Leptodophora* nemzetségek közti eloszlása is bizonyítja. Izolátumainkat, a számításba vehető fajok típus szekvenciáinak filogenetikai elemzésünkbe történt bevonása ellenére, nem sikerült fajsztinten egyértelműen azonosítanunk, azonban amint az a fentiekből is kiderül, e mikroorganizmusok pontos azonosításához az ITS szekvencia önmagában nem elegendő.

A tarackbúza eredetű izolátumok körében a *Fusarium* nemzetség és ezáltal a Hypocreales rend reprezentáltatta magát kiemelkedő mértékben (6. táblázat). Bár számos *Fusarium* fajt kórokozóként tartanak számon, több tanulmány is bizonyítja, hogy e nemzetség képviselői, például a pázsitfűfélék gyökereit tünetmentesen kolonizálva, endofiton gombaközösségek részét is képezhetik (Khidir és mtsai 2010, Knapp és mtsai 2012, 2019, Pereira és mtsai 2018, Akhmetova és mtsai 2023). A *Fusarium* izolátumok mellett, a tarackbúza gyöktörzséből nem elhanyagolható számban tettünk szert a Pleosporales rend képviselőire is. E rend a füves területek gyökéraszociált gombaközösségeiben a leginkább reprezentált rendek közé tartozik, köszönhetően például a *Darksidea* és *Periconia*, illetve az izolátumaink által is képviselt *Acrocalymma*, *Microdochium* és *Setophoma*

nemzetségek jellemzően gyakori előfordulásának (Khidir és mtsai 2010, Knapp és mtsai 2012, 2015, 2019).

Ha nem is a tarackbúza gyógyászati jelentőséggel bíró gyöktörzsének, de az arról eredő gyökereinek endofiton gombaközösségét egy ízben tanulmányozták már. Høyer és Hodkinson (2021), izolátumaik körében kizárólag az Ascomycota törzs, azon belül pedig az izolátumaink által reprezentált Dothideomycetes és Sordariomycetes osztályok képviselőit is azonosították. A Dothideomycetes osztályon belül, hozzánk hasonlóan, szinte kizárólag a Pleosporales rend, azon belül azonban az esetünkben mindössze egy izolátum reprezentálta *Ophiosphaerella* nemzetség képviselőit azonosították jelentős számban. Szembetűnő, hogy Høyer és Hodkinson (2021) az izolátumaink közel fele reprezentálta *Fusarium* nemzetség egyetlen képviselőjét sem izolálták, sőt, legnagyobb számban az izolátumaink által nem reprezentált Leotiomycetes osztályba tartozó *Leptodontidium* nemzetség képviselőire tették szert. Ahogy az utóbbiakat Høyer és Hodkinson (2021) mindegyik, úgy a *Fusarium* nemzetség képviselőit mi is a négyből három tarackbúza esetében, ha más-más mértékben is, de egyaránt izoláltuk. Egyes, csupán a mi izolátumaink reprezentálta taxonok, így például az Agaricomycetes osztály és a *Microdochium* nemzetség tarackbúza gyökereiben való előfordulását Høyer és Hodkinson (2021) tenyésztés-független módszerrel igazolták. Az egyes tarackbúzákat esetében kapott eredményeiket összevetve megállapították, hogy a gombaközösségek összetétele nem csak mintavételi területenként, hanem egyedenként is különböző, s az egyes taxonok izolátumok általi reprezentáltsága nagymértékben függ az izoláláshoz használt táptalaj típusától is (Høyer és Hodkinson 2021). Ezek legalább részben magyarázhatják az eredményeink közt tapasztalt különbségeket.

A festő buzér, tövises iglice és tarackbúza gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből származó izolátumokat összevetve megállapítható, hogy a *Fusarium* és *Acrocalymma* nemzetségek képviselőit mindhárom gyógynövényből, ha más-más gyakorisággal is, de egyaránt izoláltuk. A *Fusarium* mellett az *Acrocalymma* nemzetségre is igaz, hogy képviselői közt kórokozó és endofiton gombák egyaránt megtalálhatók, igaz, az izolátumaink által is reprezentált *A. vagum* fajt elsősorban endofitonként tartják számon (Knapp és mtsai 2012, Mortimer és mtsai 2021).

5.3.2 Vegyületek azonosítása

A festő buzér és tövises iglice gyökereiből készített kivonatokban azonosítottuk e növények szakirodalom alapján jellemző, elsősorban antrakion és izoflavonoid típusú, fő

anyagcseretermékeit (Boldizsár és mtsai 2006, Gampe és mtsai 2016). Ezen összetevők azonban nem lettek bemutatva a dolgozatomban, mivel alapvetően a gyógynövények föld alatti szerveiből izolált endofiton gombák és az általuk termelt anyagcseretermékek azonosítására összpontosítottunk. A gyógynövények föld alatti szerveiből, beleértve a tarackbúza általunk nem detektálható nyálkát és illóolajokat tartalmazó gyöktörzsét is, kivonatokat elsősorban az endofiton gombák termelte vegyületek kolonizált növényi részekből történő kimutatása céljából készítettünk.

A gyógynövényekből izolált, azonosításukat követően el nem vesztett, így a metabolikus profiljuk meghatározása céljából felszaporított endofiton gombák kivonataiban számos, az UV kromatogramok alapján jelentős mértékben felhalmozódó összetevőt detektáltunk.

A mindhárom gyógynövényből azonosított *A. vagum* izolátumok kivonataiban négy fő összetevőt (37–40) detektáltunk, melyek a penicilliumolid B (37), a rizopiknin A (38), a TMC-264 (39) és az alternariol-9-metil-éter (40) (27. ábra), e faj ismert anyagcseretermékei. Mind a négy összetevő poliketid, azon belül pedig dibenzo- α -piron típusú vegyület, a rizopiknin A és a TMC-264 klórtartalmúak. Biológiaiilag aktívak, antibakteriális, antifungális, citotoxikus és fitotoxikus hatásúak (Lai és mtsai 2016, Islam és mtsai 2019).

A tarackbúzából azonosított *Fusarium* izolátumok kivonataiban összesen három fő összetevőt (41–43) detektáltunk, ezek a rubrofuzarin (42) és az annak dimerizálódásával kialakuló aurofuzarin (41), valamint a zearalenon (43) (28. ábra). Mindhárom összetevő poliketid típusú, biológiaiilag aktív vegyület, a *Fusarium* nemzetség számos képviselőjének ismert anyagcseretermékei (Cambaza 2018, Yu és mtsai 2022).

A szintén tarackbúzából azonosított *S. terrestris* izolátumok kivonataiban négy egyforma UV spektrumú, HR-MS adataik alapján izomereknek tekinthető, hasonlóan fragmentálódó összetevőt (44–47) detektáltunk, melyeket szekalonsav típusú vegyületekként azonosítottunk (29., F.18. ábrák, 11. táblázat). A szekalonsav típusú vegyületek poliketidek, azon belül pedig homo- vagy heterodimer, a monomerek kapcsolódása szerint szimmetrikus vagy aszimmetrikus, tetrahydroxanton típusú vegyületek. El-Elmat és mtsai (2015) egy *S. terrestris* izolátum kivonatában azonosították a homodimer szekalonsav A és szekalonsav E, valamint a kapcsolódó monomerek egy-egy hidroxilcsoportjának eltérő térállása miatt heterodimer szekalonsav G nevű, izomer vegyületeket. Mindhárom vegyület szimmetrikus felépítésű, a monomerek 2/2' kötéssel kapcsolódnak egymáshoz.

Poláris oldószerekben azonban, így az általunk alkalmazott metil-alkohol oldószerben is, kialakulhatnak belőlük aszimmetrikus felépítésű izomerjeik, melyekben a monomerek 2/4' kötással kapcsolódnak egymáshoz. El-Elmat és mtsai (2015) azonosították is kivonatainkban a szekalonsav A és szekalonsav E vegyületekből kialakult penicillixanton A és penicillixanton B összetevőket (El-Elmat és mtsai 2015). UV és MS adataik, valamint fragmentálódásuk módja alapján az általunk detektált szekalonsav típusú összetevők a fent nevezett vegyületek közül kerülhetnek ki, izolálásuk és szerkezetük NMR spektroszkópia segítségével történő meghatározása folyamatban van.

A festő buzér és tövises iglice gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből származó, különböző leszármazási vonalakat reprezentáló *Cadophora* és *Leptodophora* izolátumok kivonataiban detektáltunk egy piros színű, $C_{20}H_{10}O_5$ összegképletű, szintén azonosítás alatt álló vegyületet. Maciá-Vicente és mtsai (2018), gyökerekből származó csaknem ezer endofiton törzs filogenetikai viszonyait és metabolikus profiljait összevetve, a *Cadophora* nemzetséget vegyületekben kiemelkedően gazdagnak, genetikailag és kémiaiilag egyaránt heterogénnek találták, ugyanakkor nem tapasztaltak számottevő kapcsolatot a *Cadophora* fajok filogenetikai viszonyai és metabolikus profiljai között (Maciá-Vicente és mtsai 2018).

Az endofiton gombák anyagcseretermékeit egyre intenzívebben kutatják, ugyanakkor az azonosított vegyületek kolonizált növényi részekben való előfordulását ritkán vizsgálják, viszonylag kevés tanulmány számol be az endofiton gombák tenyészeiben azonosított vegyületek *in planta* termelődéséről (Aly és mtsai 2008). Munkáink során egyes, a gyógynövények föld alatti szerveiből izolált endofiton gombák öt anyagcseretermékét sikerült kimutatnunk a gombák kolonizálta növényi részekből is.

A mindhárom gyógynövényből azonosított *A. vagum* termelte penicilliumolid B (37) vegyületet, illetve a kizárólag tarackbúzából azonosított *S. terrestris* termelte szekalonsav típusú összetevők többségét (44, 46, 47) egy-egy tarackbúza kivonatában mutattuk ki, míg a tarackbúza eredetű *Fusarium* izolátumok egyike által felhalmozott zearalenon (43) összetevőt mind a négy tarackbúza kivonatában sikerült detektálnunk (30. ábra, 12. táblázat). Míg a penicilliumolid B vegyületet abból a tarackbúzából mutattuk ki, melyből a vegyületet termelő izolátum származik, addig a szekalonsav típusú összetevőket nem a termelő izolátumok forrásául szolgáló, hanem egy másik tarackbúza kivonatában detektáltuk. Mivel eredményeink alapján a *S. terrestris* faj képes a tarackbúza gyöktörzsének

kolonizálására, vegyületei előfordulhatnak olyan tarackbúza gyöktörzsekben is, melyekből egyébként nem sikerült izolálnunk e faj képviselőit. Már csak azért is, mert az egyes gyöktörzseknek értelemszerűen más-más szakaszaiból izoláltunk endofiton gombákat és készítettünk kivonatokat, így előfordulhatott, hogy a *S. terrestris* kolonizálta, e faj vegyületeit tartalmazó szakaszok véletlenszerűen csak a metabolikus profil meghatározása céljából feldolgozott szakaszok közé kerültek, izolálás céljából pedig nem lettek feldolgozva. Azon gyöktörzs esetében, melyből izoláltuk a *S. terrestris* képviselőit, de a vegyületeiket nem tudtuk kimutatni, ugyanígy előfordulhatott, hogy a *S. terrestris* kolonizálta szakaszok csak izolálás céljából lettek feldolgozva, metabolikus profil meghatározása céljából nem. Mindemellett az, hogy egy adott mikroorganizmust nem tudunk izolálni a táptalajra helyezett növényi részekből, nem jelenti azt, hogy ez a mikroorganizmus és vegyületei nincsenek is jelen bennük. Az egyes mikroorganizmusok izolálhatósága nagymértékben függ például a növényi részek mikrobiális közösségének összetételétől. Könnyen elképzelhető, hogy a szekalonsav típusú vegyületeket tartalmazó gyöktörzs táptalajra helyezett szakaszait is kolonizálta a *S. terrestris*, ugyanakkor egyéb mikroorganizmusok, például tömegesebb jelenlétük vagy gyorsabb növekedésük révén, nem tették lehetővé e faj képviselőinek izolálását. Talán nem véletlen, hogy a *S. terrestris* izolátumok egyaránt abból a tarackbúzából származnak, melyből a *Fusarium* nemzetség egyébként nagy számban izolált, jellemzően gyors növekedésű képviselőire egyáltalán nem tettünk szert. A számos *Fusarium* faj anyagcseretermékeként ismert zearalenon összetevőt mind a négy tarackbúzából kimutattuk annak ellenére, hogy *Fusarium* izolátumokra csak három tarackbúzából tettünk szert, illetve tenyészeikben is csak egyikük halmozta fel kiemelkedő mértékben e vegyületet. A fentiekén túl mindezt magyarázza, hogy az egyes, még egyazon faj izolátumai által is jellemzően eltérő mennyiségben előállított anyagcseretermékek *in vitro* és *in planta* körülmények között különböző mértékben halmozódhatnak fel, a növényi részekben – a termelés intenzitásától függően – akár csak lokális és/vagy kismértékű kolonizáció esetén is detektálhatók lehetnek.

A tarackbúza gyöktörzseiből kimutatott, endofiton gombák termelte anyagcseretermékek egy részét mások is azonosították különböző növények föld alatti szerveiben, igaz, nem feltétlen endofiton gombák általi kolonizáció következményeként. Steffens és Robeson (1987) a hagyma vörösgyökerűségét („pink root disease”) okozó *S. terrestris* (*Pyrenochaeta terrestris*) fertőzte hagymagyökerekben azonosították a szekalonsav A vegyületet (Steffens és Robeson 1987). Koul és Sumbali (2008) különböző növények, például a gyömbér, kálmos és kurkuma gyógyászati szempontból értékes, szárított gyöktörzseiben,

az annak idején akár endofitonként kolonizáló *Fusarium* fajok termelte zearalenon jelenlétét mutatták ki (Koul és Sumbali 2008).

5.4 Vegyületek *in vitro* biológiai aktivitása

5.4.1 Növényre gyakorolt hatás

Három, a *F. fulophazii* fajból azonosított vegyület (2, 5, 8) salátamagvak csírázására, valamint e három és további 16, a *Darksidea* nemzetségből azonosított vegyület (13–16, 18–27, 29, 30) békalencse növekedésére gyakorolt hatását tesztelve tíz vegyület (15, 19, 20, 22–25, 27, 29, 30) bizonyult hatékonynak, melyek a békalencse leveleinek összterületét, illetve két vegyület (a petaszol oxidált származéka (19) és az epikokkamid D (29)) kivételével azok számát, ha más-más koncentrációban is, de szignifikánsan csökkentették (F.21. ábra, 13. táblázat). Elsőként mutattuk ki mind a tíz, egyaránt a *Darksidea* nemzetségből azonosított vegyület békalencse növekedését gátló, illetve e tízből kilenc vegyület (19, 20, 22–25, 27, 29, 30) növényre gyakorolt negatív hatását. A tíz vegyület közül egyedül a petaszol (15) fitotoxikus hatása ismert, mely az egyszikűek levelein a környezetük-nél fotoszintetikusán aktívabb foltok, úgynevezett zöld szigetek kialakulását, míg a két-szikűek esetében jellemzően a szövetek elhalását okozza (17. táblázat). Tekintettel arra, hogy a petaszol izomerjei, az izopetaszol (16) és a 3-epi-petaszol (18) nem gátolták a békalencse növekedését, a gátlás kialakulásában az e három vegyület izopropenil oldal-láncában található kettős kötés helyzete és a funkciós csoportok térállása (15. ábra) egy-aránt meghatározó. Az egymással szintén rokon szerkezetű aszkomikon B (20) és metil-éter származéka, az aszkomikon A (26) közül is csak az előbbi gátolta a békalencse nö-vekedését, ami az aszkomikon B vegyületben meglévő hidroxilcsoport(ok) (17.G ábra) gátlásban betöltött szerepére utalhat. Igaz, a szakirodalom alapján e vegyületek egyike sem gátolja a kerti zsázsa és a róka farkú köles csírázását és a csíranövények növekedését az általunk alkalmazottaknál magasabb koncentrációban sem (17. táblázat). Mivel az egy-mással rokon szerkezetű epikokkamid A és D (23, 29), illetve azok mannóz helyett mannuronsav molekularészletet tartalmazó származékai (27, 30) a békalencse leveleinek összterületét, illetve az epikokkamid D kivételével azok számát is szignifikánsan csök-kentették, növekedésgátló hatásukat a szerkezeti eltéréseik (18.I ábra) számottevően nem befolyásolják. A tesztelt vegyületek közül a petaszol mellett a monocerin (21) fitotoxikus hatása ismert, mely vegyület az általunk alkalmazottaknál jellemzően magasabb koncent-rációban fejt ki hatását (17. táblázat), magyarázva az e vegyülettel kezelt békalencsék esetében a gátlás elmaradását.

17. táblázat. A *Darksidea* izolátumok tenyésztéseiben azonosított vegyületek növényekre gyakorolt hatására vonatkozó szakirodalmi ismeretek.

vegyület		növényfaj		kezelt növényi rész	legkisebb hatékony koncentráció vagy mennyiség	hatás	referencia
15	petaszol	<i>Avena sativa</i>	abrakzab	levél	3,51 µg/sebzés	„zöld sziget” képződés ^c	Bunkers és mtsai 1990
		<i>Cynodon dactylon</i>	csillagpázsit	levél	3,51 µg/sebzés	„zöld sziget” képződés	Bunkers és mtsai 1990
		<i>Elymus repens</i> ^a	tarackbúza	levél	3,51 µg/sebzés	„zöld sziget” képződés	Bunkers és mtsai 1990
		<i>Sorghum halepense</i>	fenyércirok	levél	3,51 µg/sebzés	„zöld sziget” képződés	Bunkers és mtsai 1990
		<i>Triticum aestivum</i>	közönséges búza	levél	4,68 µg/sebzés	„zöld sziget” képződés	Bunkers és Strobel 1991
		<i>Zea mays</i>	kukorica	levél	3,51 µg/sebzés	„zöld sziget” képződés	Bunkers és mtsai 1990
		<i>Cucumis sativus</i>	uborka	levél	3,51 µg/sebzés	„zöld sziget” képződés	Bunkers és mtsai 1990
		<i>Euphorbia heterophylla</i>	-	levél	3,51 µg/sebzés	klorózis ^f	Bunkers és mtsai 1990
		<i>Glycine max</i>	szójabab	levél	3,51 µg/sebzés	nekrózis ^g	Bunkers és mtsai 1990
		<i>Helianthus annuus</i>	napraforgó	levél	3,51 µg/sebzés	nekrózis	Bunkers és mtsai 1990
		<i>Solanum lycopersicum</i> ^b	paradicsom	levél	3,51 µg/sebzés	nekrózis	Bunkers és mtsai 1990
		<i>Vigna radiata</i> ^c	mungóbab	levél	3,51 µg/sebzés	nekrózis	Bunkers és mtsai 1990
				hipokotil	10 µM	fokozott gyökérképződés	Bunkers és mtsai 1990
20	aszkomikon B	<i>Lepidium sativum</i>	kerti zsázsa	mag	> 1042 µM	-	Opatz és mtsai 2008
		<i>Setaria italica</i>	rókafarkú köles	mag	> 1042 µM	-	Opatz és mtsai 2008
21	monocerin	<i>Chlorella fusca</i> (alga)	-	-	50 µg/papírkorong	gátolt növekedés	Zhang és mtsai 2008
		<i>Cirsium arvense</i>	mezei aszat	levél	974 µM	nekrózis	Robeson és Strobel 1982
		<i>Cucumis sativus</i>	uborka	csíra	3247 µM	gátolt növekedés	Robeson és Strobel 1982
		<i>Echinochloa crus-galli</i>	közönséges kakaslábfü	csíra	244 µM	gátolt gyökérnövekedés, gyökérnekrózis	Lim 1999
		<i>Lactuca sativa</i>	kerti saláta	mag	325 µM	gátolt csírázás	Ko 1994
				csíra	32 µM	gátolt gyökérnövekedés	Ko 1994
				csíra	> 974 µM	-	Lim 1999
		<i>Lepidium sativum</i>	kerti zsázsa	mag	> 100 µg/papírkorong	-	Rupcic és mtsai 2018
		<i>Lolium multiflorum</i>	olaszperje	csíra	325 µM	gátolt gyökérnövekedés, gyökérnekrózis	Lim 1999
		<i>Oryza sativa</i>	ázsiai rizs	csíra	32 µM	gátolt csíra- és főleg gyökérnövekedés, gyökérnekrózis	Ko 1994
				csíra	325 µM	gátolt gyökérnövekedés, gyökérnekrózis	Lim 1999

		<i>Raphanus raphanistrum</i>	reték	csíra	200 µM	gátolt gyökérnövekedés	Cuq és mtsai 1993
		<i>Schoenoplectiella juncoides</i> ^d	-	csíra	162 µM	gátolt gyökérnövekedés, gyökérnekrózis	Lim 1999
		<i>Setaria italica</i>	rókafarkú köles	mag	> 100 µg/papírkorong	-	Rupcic és mtsai 2018
		<i>Solanum lycopersicum</i>	paradicsom	levél	1071 µM	hervadás	Robeson és Strobel 1982
				csíra	> 974 µM	-	Lim 1999
		<i>Sorghum halepense</i>	fenyércirok	levél	325 µM	klorózis és nekrosis	Robeson és Strobel 1982
				csíra	107 µM	gátolt csíranövekedés és gyökérnekrózis	Robeson és Strobel 1982
		<i>Zea mays</i>	kukorica	levél	400 µM	nekrosis	Cuq és mtsai 1993
23	epikokkamid A	<i>Chlorella fusca</i> (alga)	-	-	n. m.	-	Wright és mtsai 2003
26	aszkomikon A	<i>Lepidium sativum</i>	kerti zsázsa	mag	> 993 µM	-	Opatz és mtsai 2008
		<i>Setaria italica</i>	rókafarkú köles	mag	> 993 µM	-	Opatz és mtsai 2008

n. m.: nincs megadva

^{a-d} A hivatkozott szakirodalmakban szereplő fajnevek (^a *Agropyron repens*, ^b *Lycopersicon esculentum*, ^c *Phaseolus aureus*, ^d *Scirpus juncoides*) kurrens megfelelői a *World Flora Online* internetes adatbázisból származnak.

^e A „zöld sziget” kifejezés a fotoszintetizáló szerveken bizonyos fertőzések során megjelenő, a környező szöveteknél fotoszintetikusán aktívabb, zöldebb területekre utal.

^f Klorózis: a fotoszintetizáló szövetek klorofilltartalmának csökkenése, zöld színének fokozatos elvesztése.

^g Nekrosis: a szövetek – nem programozott sejthalál nyomán bekövetkező – elhalása.

Az egy- és kétszikű növények leveleire eltérően ható petaszol (**15**) esetében az egyszikűek zöld, a kétszikűek sárga háttérszínnel vannak jelölve.

A *Darksidea* izolátumok tenyészeiben azonosított további vegyületek növényekre gyakorolt hatását, a legjobb tudásunk szerint, nem tesztelték.

5.4.2 Citosztatikus hatás

A *F. fulophazii* fajból azonosított vermelhotin (**5**), hidroxivermelhotin (**2**) és flavoklorin A (**8**) vegyületek *in vitro* citosztatikus hatását tesztelve a vermelhotin bizonyult hatékonynak. Mérsékelten, ugyanakkor szignifikánsan gátolta mind a 12 daganatos sejtvonalat, melyek közül tíz esetben elsőként mutattuk ki e vegyület antiproliferatív hatását (14. táblázat). A vermelhotin HepG2 és HL-60 daganatos sejtvonalakkal szembeni aktivitását már Kasettrathat és mtsai (2008) is kimutatták, az általuk közölt 2,50 µg/mL és 1,60 µg/mL IC₅₀ értékek hasonlóak az általunk, ugyanezen sejtvonalakra kapott 10,1 µM (2,19 µg/mL) és 9,4 µM (2,03 µg/mL) IC₅₀ értékekhez. A vermelhotin hatékonyságát e két sejtvonalon kívül számos más daganatos sejtvonallal szemben is bizonyították már (Kasettrathat és mtsai 2008, Kuhnert és mtsai 2014). Mivel tesztjeink során a vermelhotin nem gátolta az egészséges VERO E6 sejteket, feltételezhető e vegyület *in vitro* citosztatikus hatásának daganatos sejtekkel szembeni szelektivitása. Ugyanakkor, Ganihigama és mtsai (2015) igazolták a vermelhotin egészséges MRC-5 sejtekkel szembeni citotoxikus hatását.

A vermelhotin új származékaként azonosított hidroxivermelhotin nem bizonyult citosztatikus hatásának egyik sejtvonallal szemben sem, mely mögött e vegyület erősebb polaritása (10.C, F ábrák), s ebből kifolyólag a sejtekbe való korlátozottabb bejutása állhat. Kuhnert és mtsai (2014) a vermelhotin mellett kimutatták a hipoxivermelhotin A citotoxikus hatását is, míg a hipoxivermelhotin B és C hatástalannak bizonyultak. A hatás hátterében a vermelhotin és a hipoxivermelhotin A mérsékeltebb polaritása, illetve a másik két vegyületből, továbbá a vermelhotin általunk azonosított származékaiból is hiányzó C-11–C-12 kettős kötés (10.B–E ábrák) állhat (Kuhnert és mtsai 2014). Mindemellett, legalábbis a vermelhotin esetében, szerepet játszhat annak kalmodulingátló aktivitása is (Leyte-Lugo és mtsai 2012).

5.4.3 Antibakteriális hatás

A *Darksidea* nemzetségből azonosított 18 vegyület (**13–30**) antibakteriális hatását tesztelve a 6-deoxibosztrikoidin (**22**) és az aszkomikon A (**26**) bizonyultak hatékonynak. Mindkét vegyület enyhén gátolta a Gram-pozitív *S. aureus* MRSA és MSSA törzseit, legjobban az aszkomikon A az MRSA törzset.

Az aszkomikon A, a szakirodalom alapján, Gram-pozitív baktériumokkal szemben hatékony (18. táblázat), amit eredményeink is alátámasztanak. A rokon szerkezetű, a szakirodalom alapján hasonlóan antibakteriális hatású aszkomikon B (**20**) (18. táblázat) azonban

nem gátolta a *S. aureus* törzseket. E vegyületek akár organizmusonként eltérő hatására példa, hogy az antifungális aktivitásuk tekintetében egyébként markánsan különböző aszkomikon A és B vegyületek közül az utóbbi számos gomba növekedését erősen gátolja, a *Paecilomyces variotii* gombára nézve azonban nem bizonyult antifungális hatásúnak (Opatz és mtsai 2008).

A 6-deoxibosztrikoidin antibakteriális hatását Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumokkal szemben egyaránt igazolták (18. táblázat). Eredményeink a szakirodalmi adatokkal összhangban vannak, mivel a *S. aureus* ATCC 29213 törzsszel szemben e vegyület általunk meghatározott legkisebb gátló koncentrációja (MIC: 100 μ M) összemérhető a Lin és mtsai (2023) által meghatározottal (MIC: 45 μ M), továbbá, e vegyület az *E. coli* ATCC 25922 törzset az általunk alkalmazott legnagyobb koncentrációnál (200 μ M) magasabb koncentrációban (372 μ M) sem gátolja (18. táblázat) (Lin és mtsai 2023).

A 18 vegyület közül kilenc (**15, 20–26, 28**) antibakteriális hatását tesztelték már, mindegyiket legalább egy, az általunk használtakkal faj-, de akár törzsszinten azonos baktériummal szemben is (18. táblázat). A petaszol (**15**) és az F2928-1 (**24**) kivételével a már tesztelt vegyületek mind antibakteriális hatásának bizonyultak, a monocerin (**21**), a 6-deoxibosztrikoidin (**22**), az epikokkamid A (**23**), a fomopszidin (**25**) és az F2928-2 (**28**) legalább egy, az általunk használtakkal faj-, de akár törzsszinten azonos baktériummal szemben (is). Legkisebb gátló koncentrációik jellemzően az általunk alkalmazott legnagyobb koncentrációval mérhetők össze (18. táblázat), ami magyarázatot adhat arra, hogy e vegyületek antibakteriális hatását miért nem sikerült igazolnunk.

Összességében, a *Darksidea* nemzetségből azonosított 18 vegyület közül kilenc (**13, 14, 16–19, 27, 29, 30**) antibakteriális hatását elsőként teszteltük, a szakirodalom alapján már tesztelt vegyületeket pedig ha fajsztinten nem is minden esetben, de legalább törzsszinten további baktériumokkal szemben (is) teszteltük. Elsőként igazoltuk az aszkomikon A (**26**) *S. aureus* MRSA és MSSA törzsekkel szembeni antibakteriális hatását.

18. táblázat. A *Darksidea* izolátumok tenyészeiben azonosított vegyületek antibakteriális hatására vonatkozó szakirodalmi ismeretek.

vegyület		baktériumfaj (alfaj)	baktériumtörzs	teszt típusa	MIC	referencia
15	petaszol	<i>Bacillus subtilis</i>	KMM 430	n. m.	> 4300 µM	Yurchenko és mtsai 2013
		<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	MD	> 3419 µM	Suekaew és mtsai 2020
		<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 21027	n. m.	> 4300 µM	Yurchenko és mtsai 2013
			ATCC 6538P	MD	> 3419 µM	Suekaew és mtsai 2020
		<i>Escherichia coli</i>	ATCC 15034	n. m.	> 4300 µM	Yurchenko és mtsai 2013
			ATCC 25922	MD	> 3419 µM	Suekaew és mtsai 2020
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	MD	> 3419 µM	Suekaew és mtsai 2020
			KMM 433	n. m.	> 4300 µM	Yurchenko és mtsai 2013
20	aszkomikon B	<i>Bacillus subtilis</i>	n. m.	DD	50 µg/papírkorong	Opatz és mtsai 2008
		<i>Brevibacillus brevis</i> ^a	n. m.	DD	50 µg/papírkorong	Opatz és mtsai 2008
		<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>dissolvens</i> ^b	n. m.	MD	> 174 µM	Opatz és mtsai 2008
		<i>Escherichia coli</i>	K12	MD	> 174 µM	Opatz és mtsai 2008
		<i>Proteus vulgaris</i>	n. m.	MD	> 174 µM	Opatz és mtsai 2008
21	monocerin	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	MD	> n. m.	Li és mtsai 2014
				MD	51 µM	Pinheiro és mtsai 2017
			DSM 10	MD	> 325 µM	Rupcic és mtsai 2018
			n. m.	DD	> 1 µg/papírkorong	Kong és mtsai 2015
		<i>Priestia megaterium</i> ^c	n. m.	DD	50 µg/papírkorong	Zhang és mtsai 2008
		<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	MD	203 µM	Pinheiro és mtsai 2017
			CGMCC 1.2465	MD	> n. m.	Li és mtsai 2014
			n. m.	DD	> 1 µg/papírkorong	Kong és mtsai 2015
		<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CGMCC 1.1692	MD	> n. m.	Li és mtsai 2014
		<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	MD	51 µM	Pinheiro és mtsai 2017
			CGMCC 1.2340	MD	> n. m.	Li és mtsai 2014
			n. m.	DD	50 µg/papírkorong	Zhang és mtsai 2008
			n. m.	DD	> 1 µg/papírkorong	Kong és mtsai 2015
		<i>Klebsiella aerogenes</i> ^d	n. m.	DD	> 1 µg/papírkorong	Kong és mtsai 2015
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	MD	51 µM	Pinheiro és mtsai 2017
			n. m.	DD	> 1 µg/papírkorong	Kong és mtsai 2015
		<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	ATCC 14028	MD	102 µM	Pinheiro és mtsai 2017
22	6-deoxibosztrikoidin	<i>Priestia megaterium</i> ^c	ATCC 18812	DD	100 µg/papírkorong	Moni és mtsai 2022
		<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	DD	100 µg/papírkorong	Moni és mtsai 2022

			ATCC 29213	MD	45 µM	Lin és mtsai 2023
			N315	MD	22 µM	Lin és mtsai 2023
			NCTC 10442	MD	45 µM	Lin és mtsai 2023
		<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	MD	> 372 µM	Lin és mtsai 2023
			ATCC 28739	DD	100 µg/papírkorong	Moni és mtsai 2022
		<i>Ralstonia solanacearum</i>	n. m.	DD	4 µg/papírkorong	Mao és mtsai 2021
		<i>Salmonella enterica</i> ^c	ATCC 28633	DD	100 µg/papírkorong	Moni és mtsai 2022
23	epikokkamid A	<i>Bacillus subtilis</i>	n. m.	DD	> 40 µg/papírkorong	Talontsi és mtsai 2013
		<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	H ₃₇ Rv	MD	> 100 µM	Harwoko és mtsai 2020
			n. m.	MD	> n. m.	Wright és mtsai 2003
		<i>Priestia megaterium</i> ^c	n. m.	DD	> n. m.	Wright és mtsai 2003
		<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	MD	> 100 µM	Harwoko és mtsai 2020
			KCTC 3881	MD	115 µM	Kwon és mtsai 2023
			n. m.	DD	40 µg/papírkorong	Talontsi és mtsai 2013
		<i>Acinetobacter baumannii</i>	n. m.	MD	> 100 µM	Harwoko és mtsai 2020
		<i>Escherichia coli</i>	MG1655	MD	> 230 µM	Kwon és mtsai 2023
			n. m.	DD	> n. m.	Wright és mtsai 2003
			n. m.	DD	> 40 µg/papírkorong	Talontsi és mtsai 2013
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	n. m.	MD	> 100 µM	Harwoko és mtsai 2020
24	F2928-1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Smith	MD	> 106 µM	Kanai és mtsai 2005
		<i>Burkholderia cepacia</i> ^f	23	MD	> 106 µM	Kanai és mtsai 2005
		<i>Escherichia coli</i>	NIHJ JC-2	MD	> 106 µM	Kanai és mtsai 2005
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	No. 42	MD	> 106 µM	Kanai és mtsai 2005
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PAO-1	MD	> 106 µM	Kanai és mtsai 2005
25	fomopszidin	<i>Bacillus subtilis</i>	DSM-10	MD	202 µM	Halecker és mtsai 2020
		<i>Micrococcus luteus</i>	DSM-1790	MD	> 202 µM	Halecker és mtsai 2020
		<i>Mycobacterium smegmatis</i>	ATCC 700084	MD	> 202 µM	Halecker és mtsai 2020
		<i>Staphylococcus aureus</i>	DSM-346	MD	202 µM	Halecker és mtsai 2020
		<i>Chromobacterium violaceum</i>	DSM-30191	MD	> 202 µM	Halecker és mtsai 2020
		<i>Escherichia coli</i>	DSM-1116	MD	> 202 µM	Halecker és mtsai 2020
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PA14	MD	> 202 µM	Halecker és mtsai 2020
26	aszkomikon A	<i>Bacillus subtilis</i>	n. m.	DD	50 µg/papírkorong	Opatz és mtsai 2008
		<i>Brevibacillus brevis</i> ^a	n. m.	DD	50 µg/papírkorong	Opatz és mtsai 2008
		<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>dissolvens</i> ^b	n. m.	MD	> 166 µM	Opatz és mtsai 2008
		<i>Escherichia coli</i>	K12	MD	> 166 µM	Opatz és mtsai 2008

		<i>Proteus vulgaris</i>	n. m.	MD	> 166 µM	Opatz és mtsai 2008
28	F2928-2	<i>Bacillus subtilis</i>	n. m.	DD	100 µg/papírkorong	Mitova és mtsai 2006
			n. m.	MD	281 µM	Dao és mtsai 2022
		<i>Staphylococcus aureus</i>	21773	MD	281 µM	Dao és mtsai 2022
			ATCC 29213	MD	281 µM	Dao és mtsai 2022
			Mu50	MD	281 µM	Dao és mtsai 2022
			Smith	MD	> 110 µM	Kanai és mtsai 2005
		<i>Burkholderia cepacia</i> ^f	23	MD	> 110 µM	Kanai és mtsai 2005
		<i>Escherichia coli</i>	NIHJ JC-2	MD	> 110 µM	Kanai és mtsai 2005
			n. m.	MD	> n. m.	Dao és mtsai 2022
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	No. 42	MD	> 110 µM	Kanai és mtsai 2005
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PAO-1	MD	> 110 µM	Kanai és mtsai 2005

MIC: legkisebb gátló koncentráció (*minimum inhibitory concentration*), vagyis az adott vegyület azon legkisebb koncentrációja, mely gátolja az adott baktérium felszaporodását.
A korongdiffúziós tesztek esetében az adott vegyület papírkorongra felvitt mennyisége (µg) van megadva.

n. m.: nincs megadva

MD: mikrodilúciós teszt (*microdilution assay*)

DD: korongdiffúziós teszt (*disk diffusion assay*)

^{a-f} A hivatkozott szakirodalmakban szereplő fajnevek (^a *Bacillus brevis*, ^b *Enterobacter dissolvens*, ^c *Bacillus megaterium*, ^d *Enterobacter aerogenes*, ^e *Salmonella typhi*, ^f *Pseudomonas cepacia*) korrekt megfelelői a *List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature* internetes adatbázisból származnak.

A Gram-pozitív baktériumok piros, a Gram-negatív baktériumok kék háttérszínnel, az általunk is felhasznált baktériumfajok és -törzsek vastag betűvel, a szakirodalmi adatok alapján gátló koncentrációk pedig vörös betűvel vannak jelölve.

A *Darksidea* nemzetség tenyészetében azonosított további vegyületek antibakteriális hatását, a legjobb tudásunk szerint, nem tesztelték

6. KONKLÚZIÓK

Kutatásunk tárgyát a füves területek gyökéraszociált gombaközösségeinek részét képező, valamint ipari felhasználásra kerülő növényi alapanyagokat kolonizáló endofiton gombák és másodlagos anyagcseretermékeik képezték.

A kutatócsoportunk által a közelmúltban leírt, a kiskunsági nyílt homokpusztagyepeken előforduló *Flavomyces fulophazii*, valamint a hazai és észak-amerikai füves területeken gyakori *Darksidea* nemzetség (Knapp és mtsai 2015) további képviselőit azonosítottuk, elsőként igazolva a *F. fulophazii* Mongóliában, a *Darksidea* nemzetség Mongóliában és Kazahsztánban való előfordulását (Knapp és mtsai 2019, Berek-Nagy és mtsai 2021).

Elsőként határoztuk meg e sötét szeptált endofiton gombák metabolikus összetételét. A *F. fulophazii* négy új tetrámsav és hét új azafilon típusú vegyület, valamint a ritka előfordulású, számos biológiai aktivitással bíró vermelhotin forrásának bizonyult (Berek-Nagy és mtsai 2021). A *Darksidea* nemzetségből két új tetrámsav és két új terpenoid típusú vegyületet, valamint 14, változatos szerkezetű, zömmel ritka előfordulású, ugyanakkor biológiailag aktív, elsősorban terpenoid és poliketid típusú vegyületet azonosítottunk. A *Darksidea* izolátumok metabolikus profiljait felhasználtuk a nemzetség különböző szempontok szerinti revíziójához is, az izolátumok filogenetikai helyzete, morfológiája és metabolikus összetétele alapján a hét faj reprezentálta *Darksidea* nemzetség további hat feltehetően új faját azonosítottuk. A vegyületek bioaktivitását tesztelve a vermelhotin antiproliferatív hatásának bizonyult 12 daganatos sejtvonallal szemben, melyek közül tíz esetben elsőként igazoltuk e vegyület citosztatikus hatását (Berek-Nagy és mtsai 2021). A vegyületeinkkel elsőként kezelt békalencse növekedését tíz összetevő gátolta, melyek közül kilenc összetevő növényekre gyakorolt negatív hatását elsőként mutattuk ki. Elsőként igazoltuk továbbá az aszkomikon A vegyület *Staphylococcus aureus* MSSA és MRSA törzsekkel szembeni antibakteriális hatását.

Összességében, a *F. fulophazii* és a *Darksidea* nemzetség izolátumainak másodlagos anyagcseretermékeit elsőként meghatározva 30, köztük 15 új természetes vegyületet azonosítottunk, 12 vegyület biológiai aktivitását – antiproliferatív, növény-növekedés-gátló, illetve antibakteriális hatását – legalább egyes sejtvonalakkal, illetve (mikro)organizmusokkal szemben elsőként igazoltuk. Ezáltal, a *Flavomyces* és *Darksidea* nemzetségek, izolátumaik könnyű hozzáférhetőségének és fenntarthatóságának is köszönhetően, számos, zömmel bioaktív vegyület új és értékes forrásainak bizonyultak.

A csiperketermesztésre szolgáló komposztból és növényi alapanyagaiból, valamint egyes gyógynövények hatóanyagokat tartalmazó föld alatti szerveiből egyaránt sikerült endofiton gombákat izolálnunk, másodlagos anyagcseretermékeiket azonosítanunk.

A csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállítását endofiton gombák izolálása céljából elsőként, ráadásul több alkalommal, gyakori mintavétel mellett követtük végig. Ebből adódóan egyes növényi alapanyagokból és komposztmintákból elsőként izoláltunk endofiton gombákat. A komposzt növényi alapanyagaiból (búza-, árpa- és repceszalma) származó izolátumok körében az *Alternaria* nemzetség dominanciáját tapasztaltuk, míg az első fázisú komposztból elsősorban *Aspergillus*, a második fázisú (hőkezelt) komposztból szinte kizárólag *Mycothermus thermophilus*, a harmadik fázisú (átszövetett) komposztból pedig, az endofitonként értelemszerűen nem kezelhető csiperke mellett, alkalmasszerűen *Penicillium* izolátumokra tettünk szert. A növényi alapanyagok festett preparátumaiban kiterjedt kolonizációt tapasztaltunk. Búza- és árpaszalmában azonosítottuk a tricin vegyületet és négy flavonolignán származékát, mennyiségüknek a komposztgyártás előrehaladtával bekövetkező jelentős csökkenését elsőként igazoltuk. A hőkezelt komposztra jellemző *M. thermophilus* izolátumaiban elsőként azonosítottunk egy aszterrikinon típusú összetevőt. Ahogy a komposztgyártás során egymást követően felszaporodó, általunk is azonosított különböző mikroorganizmusok igazoltan, úgy az általuk termelt és a növényi alapanyagokban jelenlévő természetes vegyületek is befolyásolhatják a komposztgyártás és csiperketermesztés hatékonyságát.

A festő buzér, tövises iglice és tarackbúza gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből elsőként izoláltunk endofiton gombákat. A festő buzér és tövises iglice esetében zömmel *Cadophora* és *Leptodophora* izolátumokra tettünk szert, míg a tarackbúzából származó, akár a termesztett búza gyökereit is kolonizálni képes izolátumok körében a *Fusarium* nemzetség képviseltette magát kiemelkedő mértékben. A mindhárom gyógynövényből azonosított *Acrocalymma vagum*, valamint a tarackbúzából azonosított *Setophoma terrestris* és *Fusarium* izolátumokban összesen 11, poliketid típusú összetevőt azonosítottunk. Ezek közül ötöt kimutattunk a tarackbúza gyöktörzséből is, igazolva, hogy az endofiton gombák, anyagcseretermékeik révén, befolyásolhatják a növényi alapanyagok, még a gyógynövények jól ismert kémiai összetételét, így akár azok gyógyhatását is.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy ahogyan a természetes ökoszisztémák részét képező pázsitfűfélék egészséges gyökereiben, úgy az ipari felhasználásra kerülő tünetmentes növényi alapanyagokban is előfordulnak bioaktív anyagcseretermékeket akár *in planta* is előállító – az adott ipari tevékenység hatékonyságát potenciálisan, akár a vegyületeik révén befolyásoló – endofiton gombák.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A dolgozatban bemutatott munkáink során pázsitfűfélék gyökereit, valamint ipari felhasználásra kerülő növényi alapanyagokat kolonizáló endofiton gombákat vizsgáltunk. **(1)** Célul tűztük ki a kutatócsoportunk által leírt *Flavomyces* és *Darksidea* nemzetségek másodlagos anyagcseretermékeinek azonosítását, valamint a *Darksidea* nemzetség – többek között az izolátumok metabolikus profiljain alapuló – revízióját. **(2)** Célunk volt továbbá a csiperketermesztésre szolgáló komposztból és növényi alapanyagaiból, valamint egyes gyógynövényekből endofiton gombákat izolálni, másodlagos anyagcseretermékeiket – akár a kolonizált növényi részekben is – azonosítani. **(3)** Mindemellett, az izolált vegyületek növényekre gyakorolt, citosztatikus és antibakteriális hatását is terveztük tesztelni.

(1) Pázsitfűfélék gyökereiből endofiton gombákat izolálva, elsőként igazoltuk a *Flavomyces* nemzetség Mongóliában, illetve a *Darksidea* nemzetség Mongóliában és Kazahsztánban való előfordulását. E sötét szeptált endofiton gombák metabolikus összetételét elsőként meghatározva, a *F. fulophazii* izolátumok tenyészeiben 12, a *Darksidea* izolátumokéban pedig 18 másodlagos anyagcsereterméket, köztük 15 új természetes vegyületet azonosítottunk. A vizsgált 106 *Darksidea* izolátum filogenetikai helyzete, morfológiája és metabolikus összetétele alapján a nemzetség hat feltehetően új fajtát azonosítottuk.

(2) A csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállítását többször is nyomon követve közel 300, köztük számos, a gyártás egyes stádiumaira kifejezetten jellemző *Alternaria*, *Aspergillus* és *Mycothermus* nemzetségeket reprezentáló izolátumra tettünk szert. A gyártás alapanyagául szolgáló búza-, árpa- és repceszalmában, különböző vizualizációs technikákat alkalmazva, kiterjedt és sűrű kolonizációt tapasztaltunk. A búza- és árpaszalmában öt növényi anyagcsereterméket azonosítottunk, melyek mennyiségének a komposztgyártás előrehaladtával bekövetkező jelentős csökkenését elsőként igazoltuk.

A vizsgált gyógynövények gyógyászati jelentőséggel bíró föld alatti szerveiből endofiton gombákat elsőként izolálva, a festő buzér és tövises iglice gyökeréből elsősorban *Cadophora* és *Leptodophora*, míg a tarackbúza gyöktörzséből zömmel *Fusarium* izolátumokra tettünk szert. Az izolátumok tenyészeiben 11 másodlagos anyagcsereterméket azonosítottuk, melyek közül ötöt a kolonizált növényi részekből is kimutattunk.

(3) Az izolált vegyületek biológiai aktivitását tesztelve tíz vegyület növénynövekedésgátló, egy vegyület citosztatikus és két vegyület antibakteriális hatását igazoltuk.

8. SUMMARY

In this study, we investigated the endophytic fungi colonizing grass roots and plant materials of industrial importance. (1) We aimed to identify secondary metabolites of *Flavomyces* and *Darksidea*, two fungal genera recently described by our research group. Carrying out a polyphasic characterization of fungal isolates, including the comparison of their metabolite profiles, we also aimed to revisit the genus *Darksidea*. (2) Our further goals were to isolate endophytic fungi from compost used for button mushroom cultivation, as well as from certain medicinal plants, and to identify their secondary metabolites, even in the colonized plant materials. (3) Moreover, we also aimed to test plant growth modulatory, cytostatic and antibacterial activities of isolated compounds.

(1) Isolating endophytic fungi from grass roots, we were the first to demonstrate the occurrence of the genus *Flavomyces* in Mongolia, and that of the genus *Darksidea* in both Mongolia and Kazakhstan. Determining metabolite profiles of these dark septate endophytes for the first time, in cultures of *F. fulophazii* we identified 12, while in those of the *Darksidea* isolates we identified 18 secondary metabolites, 15 of which were determined to be novel natural compounds. Based on the phylogenetic position, morphology and metabolite composition of the 106 *Darksidea* isolates investigated, we identified six potentially novel species of the genus.

(2) Tracking the compost production for button mushroom cultivation several times, almost 300 fungal isolates were obtained, including numerous representatives of the genera *Alternaria*, *Aspergillus* and *Mycothermus*, characteristic of certain stages of production. Using different visualization techniques, we observed extensive and dense fungal colonization in straw, the raw plant material of compost. In wheat- and barley straw, we identified five plant secondary metabolites, and we were the first to demonstrate the decrease in their amounts during compost production.

Isolating endophytic fungi for the first time from the pharmacologically valuable underground organs of the medicinal plants studied, from *Rubia tinctorum* and *Ononis spinosa* we identified predominantly *Cadophora* and *Leptodophora* isolates, while from *Elymus repens* mainly *Fusarium* isolates were obtained. We identified 11 secondary metabolites of the isolates, five of which were detected in the colonized plant materials as well.

(3) Testing biological activities of isolated compounds, we demonstrated plant growth inhibitory, cytostatic and antibacterial activities of ten, one, and two compounds, respectively.

9. IRODALOMJEGYZÉK

- Akhmetova GK, Knapp DG, Özer G, O'Donnell K, Laraba I, Kiyas A, Zabolotskikh V, Kovács GM, Molnár O (2023) Multilocus molecular phylogenetic-led discovery and formal recognition of four novel root-colonizing *Fusarium* species from northern Kazakhstan and the phylogenetically divergent *Fusarium steppicola* lineage. *Mycologia* **115**: 16–31. <https://doi.org/10.1080/00275514.2022.2119761>
- Aldridge DC, Turner WB (1970) Metabolites of *Helminthosporium monoceras*: structures of monocerin and related benzopyrans. *Journal of the Chemical Society C: Organic* 2598–2600. <https://doi.org/10.1039/J39700002598>
- Al-Snafi AE (2015) Chemical constituents and pharmacological importance of *Agropyron repens* – a review. *Research Journal of Pharmacology and Toxicology* **1**: 37–41.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* **215**: 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Aly AH, Debbab A, Kjer J, Proksch P (2010) Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. *Fungal Diversity* **41**: 1–16. <https://doi.org/10.1007/s13225-010-0034-4>
- Ashworth AJ, Chastain JP, Moore Jr PA (2020) Nutrient characteristics of poultry manure and litter. In: Waldrup HM, Pagliari PH, He Z (eds) *Animal Manure: Production, Characteristics, Environmental Concerns and Management. ASA (American Society of Agronomy) Special Publication*, American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Crop Science Society of America, **67** 63–87. <https://doi.org/10.2134/asaspecpub67.c5>
- Atkey PT, Wood DA (1983) An electron microscope study of wheat straw composted as a substrate for the cultivation of the edible mushroom (*Agaricus bisporus*). *Journal of Applied Bacteriology* **55**: 293–304. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1983.tb01326.x>
- Bahcecioglu Z, Kabaktepe S (2012) Checklist of rust fungi in Turkey. *Mycotaxon* **119**: 494.
- Balogun FO, Abdulsalam RA, Ojo AO, Cason E, Sabiu S (2023) Chemical characterization and metagenomic identification of endophytic microbiome from South African sunflower (*Helianthus annuus*) seeds. *Microorganisms* **11**: 988. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040988>
- Baranyai Z, Krátký M, Vosátka R, Szabó E, Senoner Z, Dávid S, Stolaříková J, Vinšová J, Bősze S (2017) *In vitro* biological evaluation of new antimycobacterial salicylanilide-tuftsins conjugates. *European Journal of Medicinal Chemistry* **133**: 152–173. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.047>
- Basotra N, Kaur B, Di Falco M, Tsang A, Chadha BS (2016) *Mycothermus thermophilus* (Syn. *Scytalidium thermophilum*): repertoire of a diverse array of efficient cellulases and hemicellulases in the secretome revealed. *Bioresource Technology* **222**: 413–421. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.018>
- Benemei S, De Logu F, Li Puma S, Marone IM, Coppi E, Ugolini F, Liedtke W, Pollastro F, Appendino G, Geppetti P, Materazzi S, Nassini R (2017) The anti-migraine component of butterbur extracts, isopetasin, desensitizes peptidergic nociceptors by acting on TRPA1 cation channel. *British Journal of Pharmacology* **174**: 2897–2911. <https://doi.org/10.1111/bph.13917>

- Berek-Nagy PJ, Tóth G, Bősze S, Horváth LB, Darcsi A, Csíkos S, Knapp DG, Kovács GM, Boldizsár I (2021) The grass root endophytic fungus *Flavomyces fulophazii*: an abundant source of tetramic acid and chlorinated azaphilone derivatives. *Phytochemistry* **190**: 112851. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.112851>
- Błaszczczyk L, Salamon S, Mikołajczak K (2021) Fungi inhabiting the wheat endosphere. *Pathogens* **10**: 1288. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101288>
- Bokati D, Herrera J, Poudel R (2016) Soil influences colonization of root-associated fungal endophyte communities of maize, wheat, and their progenitors. *Journal of Mycology* **2016**: 8062073. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8062073>
- Boldizsár I, Szűcs Z, Füzfa Z, Molnár-Perl I (2006) Identification and quantification of the constituents of madder root by gas chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **1133**: 259–274. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.08.021>
- Borchsenius F (2009) FastGap 1.2. *Department of Biosciences, Aarhus University, Denmark*. Published online at https://www.aubot.dk/FastGap_home.htm.
- Brennan CJ, Benbow HR, Mullins E, Doohan FM (2019) A review of the known unknowns in the early stages of septoria tritici blotch disease of wheat. *Plant Pathology* **68**: 1427–1438. <https://doi.org/10.1111/ppa.13077>
- Bu Y, Yamazaki H, Ukai K, Namikoshi M (2015) Penicillimide, an open-chain hemisuccinimide from Okinawan marine-derived *Penicillium copticola*. *The Journal of Antibiotics* **68**: 537–539. <https://doi.org/10.1038/ja.2015.21>
- Bunkers G, Kenfield D, Strobel G, Sugawara F (1990) Structure-activity relationships of the eremophilanes produced by *Drechslera gigantea*. *Phytochemistry* **29**: 1471–1474. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)80103-N](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)80103-N)
- Bunkers GJ, Kenfield D, Strobel GA (1991) Production of petasol by *Drechslera gigantea* in liquid culture. *Mycological Research* **95**: 347–351. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)81246-X](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)81246-X)
- Bunkers GJ, Strobel GA (1991) A proposed mode of action for green island induction by the eremophilane phytotoxins produced by *Drechslera gigantea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **38**: 313–323. [https://doi.org/10.1016/S0885-5765\(05\)80133-X](https://doi.org/10.1016/S0885-5765(05)80133-X)
- Calabon MS, Jones EBG, Hyde KD, Boonmee S, Tibell S, Tibell L, Pang K, Phookamsak R (2021) Phylogenetic assessment and taxonomic revision of *Halobyssothecium* and *Lentithecium* (Lentitheciaceae, Pleosporales). *Mycological Progress* **20**: 701–720. <https://doi.org/10.1007/s11557-021-01692-x>
- Cambaza E (2018) Comprehensive description of *Fusarium graminearum* pigments and related compounds. *Foods* **7**: 165. <https://doi.org/10.3390/foods7100165>
- Cao G, Song T, Shen Y, Jin Q, Feng W, Fan L, Cai W (2019) Diversity of bacterial and fungal communities in wheat straw compost for *Agaricus bisporus* cultivation. *HortScience* **54**: 100–109. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI13598-18>
- Carpenter CL, White M, Serpe MD (2021) Co-inoculation with a dark septate endophyte alters arbuscular mycorrhizal colonization of two widespread plants of the sagebrush steppe. *Symbiosis* **85**: 343–357. <https://doi.org/10.1007/s13199-021-00819-8>

- Carrasco J, García-Delgado C, Lavega R, Tello ML, De Toro M, Barba-Vicente V, Rodríguez-Cruz MS, Sánchez-Martín MJ, Pérez M, Preston GM (2020) Holistic assessment of the microbiome dynamics in the substrates used for commercial champignon (*Agaricus bisporus*) cultivation. *Microbial Biotechnology* **13**: 1933–1947. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13639>
- Carrasco J, Preston GM (2020) Growing edible mushrooms: a conversation between bacteria and fungi. *Environmental Microbiology* **22**: 858–872. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14765>
- Carrasco J, Tello ML, de Toro M, Tkacz A, Poole P, Pérez-Clavijo M, Preston G (2019) Casing microbiome dynamics during button mushroom cultivation: implications for dry and wet bubble diseases. *Microbiology* **165**: 611–624. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000792>
- Chen H, Aktas N, Konuklugil B, Mándi A, Daletos G, Lin W, Dai H, Kurtán T, Proksch P (2015) A new fusarielin analogue from *Penicillium* sp. isolated from the Mediterranean sponge *Ircinia oros*. *Tetrahedron Letters* **56**: 5317–5320. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.07.072>
- Chen J, Xu D, Chao L, Liu H, Bao Y (2020) Microbial assemblages associated with the rhizosphere and endosphere of an herbage, *Leymus chinensis*. *Microbial Biotechnology* **13**: 1390–1402. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13558>
- Chen T, Zhang Y, Christensen M, Li C, Hou F, Nan Z (2018) Grazing intensity affects communities of culturable root-associated fungi in a semiarid grassland of northwest China. *Land Degradation & Development* **29**: 361–373. <https://doi.org/10.1002/ldr.2773>
- Chen Y, Liu H, Zou G, Yang W, Zhang L, Yan Z, Long Y, She Z (2021) Bioactive sesquiterpene derivatives from mangrove endophytic fungus *Phomopsis* sp. SYSU-QYP-23: structures and nitric oxide inhibitory activities. *Bioorganic Chemistry* **107**: 104530. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104530>
- Cheng Z, Zhao J, Liu D, Proksch P, Zhao Z, Lin W (2016) Eremophilane-type sesquiterpenoids from an *Acremonium* sp. fungus isolated from deep-sea sediments. *Journal of Natural Products* **79**: 1035–1047. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01103>
- Choi EH, Park S, Kwon H (2022) Genetic localization of epicoccamide biosynthetic gene cluster in *Epicoccum nigrum* KACC 40642. *Journal of Applied Biological Chemistry* **65**: 159–166. <https://doi.org/10.3839/jabc.2022.021>
- Claydon N, Grove JF, Pople M (1979) Insecticidal secondary metabolic products from the entomogenous fungus *Fusarium larvarum*. *Journal of Invertebrate Pathology* **33**: 364–367. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(79\)90039-9](https://doi.org/10.1016/0022-2011(79)90039-9)
- Coronado L, Zhang X, Dorta D, Escala N, Pineda LM, Ng MG, del Olmo E, Wang C, Gu Y, Shao C, Spadafora C (2021) Semisynthesis, antiparasmodial activity, and mechanism of action studies of isocoumarin derivatives. *Journal of Natural Products* **84**: 1434–1441. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c01032>
- Cruz JS, da Silva CA, Hamerski L (2020) Natural products from endophytic fungi associated with Rubiaceae species. *Journal of Fungi* **6**: 128. <https://doi.org/10.3390/jof6030128>
- Cui H, Yu J, Chen S, Ding M, Huang X, Yuan J, She Z (2017) Alkaloids from the mangrove endophytic fungus *Diaporthe phaseolorum* SKS019. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **27**: 803–807. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.01.029>

- Cuq F, Brown SC, Petitprez M, Alibert G (1995) Effects of monocerin on cell cycle progression in maize root meristems synchronized with aphidicolin. *Plant Cell Reports* **15**: 138–142. <https://doi.org/10.1007/BF01690271>
- Cuq F, Herrmann-Gorline S, Klaebe A, Rossignol M, Petitprez M (1993) Monocerin in *Exserohilum turcicum* isolates from maize and a study of its phytotoxicity. *Phytochemistry* **34**: 1265–1270. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)80013-Q](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)80013-Q)
- da Cruz MFA, Silva LAF, Rios JA, Debona D, Rodrigues FÁ (2015) Microscopic aspects of the colonization of *Pyricularia oryzae* on the rachis of wheat plants supplied with sili-con. *Bragantia* **74**: 207–214. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.0023>
- Daengrot C, Rukachaisirikul V, Tansakul C, Thongpanchang T, Phongpaichit S, Bowornwiriyan K, Sakayaroj J (2015) Eremophilane sesquiterpenes and diphenyl thioethers from the soil fungus *Penicillium copticola* PSU-RSPG138. *Journal of Natural Products* **78**: 615–622. <https://doi.org/10.1021/np5005328>
- Dao T, Williams K, de Mattos-Shipley KMJ, Song Z, Takebayashi Y, Simpson TJ, Spencer J, Bailey AM, Willis CL (2022) Cladobotric acids: metabolites from cultures of *Cladobotryum* sp., semisynthetic analogues and antibacterial activity. *Journal of Natural Products* **85**: 572–580. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.1c01063>
- Dayarathne MC, Wanasinghe DN, Jones EBG, Chomnunti P, Hyde KD (2018) A novel marine genus, *Halobyssothecium* (Lentitheciaceae) and epitypification of *Halobyssothecium obiones* comb. nov. *Mycological Progress* **17**: 1161–1171. <https://doi.org/10.1007/s11557-018-1432-3>
- d’Errico G, Aloj V, Flematti GR, Sivasithamparam K, Worth CM, Lombardi N, Ritieni A, Marra R, Lorito M, Vinale F (2021) Metabolites of a *Drechslera* sp. endophyte with potential as biocontrol and bioremediation agent. *Natural Product Research* **35**: 4508–4516. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1737058>
- Debrunner B, Neuenschwander M (1995) Sesquiterpenes of *Petasites hybridus* (L.) G.M. et Sch.: influence of locations and seasons on sesquiterpene distribution. *Pharmaceutica Acta Helveticae* **70**: 315–323. [https://doi.org/10.1016/0031-6865\(95\)00037-2](https://doi.org/10.1016/0031-6865(95)00037-2)
- Del Valle P, Figueroa M, Mata R (2015) Phytotoxic eremophilane sesquiterpenes from the coprophilous fungus *Penicillium* sp. G1-a14. *Journal of Natural Products* **78**: 339–342. <https://doi.org/10.1021/np5009224>
- DePasquale DA, Montville TJ (1990) Mechanism by which ammonium bicarbonate and ammonium sulfate inhibit mycotoxigenic fungi. *Applied and Environmental Microbiology* **56**: 3711–3717. <https://doi.org/10.1128/aem.56.12.3711-3717.1990>
- Deshmukh SK, Dufossé L, Chhipa H, Saxena S, Mahajan GB, Gupta MK (2022) Fungal endophytes: a potential source of antibacterial compounds. *Journal of Fungi* **8**: 164. <https://doi.org/10.3390/jof8020164>
- Díaz-Rojas M, González-Andrade M, Aguayo-Ortiz R, Rodríguez-Sotres R, Pérez-Vásquez A, Madariaga-Mazón A, Mata R (2023) Discovery of inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B contained in a natural products library from Mexican medicinal plants and fungi using a combination of enzymatic and *in silico* methods. *Frontiers in Pharmacology* **14**: 1281045. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1281045>

- El-Elimat T, Figueroa M, Raja HA, Graf TN, Swanson SM, Falkinham III JO, Wani MC, Pearce CJ, Oberlies NH (2015) Biosynthetically distinct cytotoxic polyketides from *Setophoma terrestris*. *European Journal of Organic Chemistry* **2015**: 109–121. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201402984>
- Fan B, Parrot D, Blümel M, Labes A, Tasdemir D (2019) Influence of OSMAC-based cultivation in metabolome and anticancer activity of fungi associated with the brown alga *Fucus vesiculosus*. *Marine Drugs* **17**: 67. <https://doi.org/10.3390/md17010067>
- Fatima N, Mumtaz A, Shamim R, Qadir MI, Muhammad SA (2016) *In silico* analyses of epicoccamides on selected *Leishmania* trypanothione reductase enzyme-based target. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* **78**: 259–266. <https://doi.org/10.4172/pharmaceutical-sciences.1000111>
- Feng Y, Chen B, Yu Q, Li L (2019) Identification of double bond position isomers in unsaturated lipids by m-CPBA epoxidation and mass spectrometry fragmentation. *Analytical Chemistry* **91**: 1791–1795. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04905>
- Forsch K, Schöning V, Assmann GM, Moser C, Siewert B, Butterweck V, Drewe J (2020) *In vitro* hepatotoxicity of *Petasites hybridus* extract (Ze 339) depends on the concentration, the cytochrome activity of the cell system, and the species used. *Phytotherapy Research* **34**: 184–192. <https://doi.org/10.1002/ptr.6516>
- Frandsen RJN, Rasmussen SA, Knudsen PB, Uhlig S, Petersen D, Lysøe E, Gotfredsen CH, Giese H, Larsen TO (2016) Black perithecial pigmentation in *Fusarium* species is due to the accumulation of 5-deoxybostrycoidin-based melanin. *Scientific Reports* **6**: 26206. <https://doi.org/10.1038/srep26206>
- Frisvad JC, Andersen B, Thrane U (2008) The use of secondary metabolite profiling in chemotaxonomy of filamentous fungi. *Mycological Research* **112**: 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.08.018>
- Gakuubi MM, Ching KC, Munusamy M, Wibowo M, Liang Z, Kanagasundaram Y, Ng SB (2022) Enhancing the discovery of bioactive secondary metabolites from fungal endophytes using chemical elicitation and variation of fermentation media. *Frontiers in Microbiology* **13**: 898976. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.898976>
- Gall DL, Kontur WS, Lan W, Kim H, Li Y, Ralph J, Donohue TJ, Noguera DR (2018) *In vitro* enzymatic depolymerization of lignin with release of syringyl, guaiacyl, and tricin units. *Applied and Environmental Microbiology* **84**: e02076-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02076-17>
- Gampe N, Darcsi A, Lohner S, Béni S, Kursinszki L (2016) Characterization and identification of isoflavonoid glycosides in the root of Spiny restharrow (*Ononis spinosa* L.) by HPLC-QTOF-MS, HPLC-MS/MS and NMR. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **123**: 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.01.058>
- Ganihigama DU, Sureram S, Sangher S, Hongmanee P, Aree T, Mahidol C, Ruchirawat S, Kittakoop P (2015) Antimycobacterial activity of natural products and synthetic agents: pyrrolodiquinolines and vermelhotin as anti-tubercular leads against clinical multidrug resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *European Journal of Medicinal Chemistry* **89**: 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.10.026>
- Gao J, Yang S, Qin J (2013) Azaphilones: chemistry and biology. *Chemical Reviews* **113**: 4755–4811. <https://doi.org/10.1021/cr300402y>

- Gao W, Liu S, Tian Y, Dong Q, Zhang J, Qin J, Luo D (2019) Setosphaerine A: a new chlorinated polyketide isolated from the entomogenous fungus *Setosphaeria rostrata*. *Natural Product Communications* **14**. <https://doi.org/10.1177/1934578X19860014>
- Gardes M, Bruns TD (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* **2**: 113–118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x>
- Germoush MO, Elgebaly HA, Hassan S, Kamel EM, Bin-Jumah M, Mahmoud AM (2020) Consumption of terpenoids-rich *Padina pavonia* extract attenuates hyperglycemia, insulin resistance and oxidative stress, and upregulates PPAR γ in a rat model of type 2 diabetes. *Antioxidants* **9**: 22. <https://doi.org/10.3390/antiox9010022>
- Glass NL, Donaldson GC (1995) Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology* **61**: 1323–1330. <https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1323-1330.1995>
- Glynou K, Ali T, Buch A, Kia SH, Ploch S, Xia X, Çelik A, Thines M, Maciá-Vicente JG (2016) The local environment determines the assembly of root endophytic fungi at a continental scale. *Environmental Microbiology* **18**: 2418–2434. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13112>
- Gomes TC, Conrado R, de Oliveira RC, Selari PJRG, de Melo IS, Araújo WL, Maria DA, De Souza AO (2023) Effect of monocerin, a fungal secondary metabolite, on endothelial cells. *Toxins* **15**: 344. <https://doi.org/10.3390/toxins15050344>
- Gonzalez-Menendez V, Martin J, Siles JA, Gonzalez-Tejero MR, Reyes F, Platas G, Tormo JR, Genilloud O (2017) Biodiversity and chemotaxonomy of *Preussia* isolates from the Iberian Peninsula. *Mycological Progress* **16**: 713–728. <https://doi.org/10.1007/s11557-017-1305-1>
- Gouy M, Tannier E, Comte N, Parsons DP (2021) Seaview version 5: a multiplatform software for multiple sequence alignment, molecular phylogenetic analyses, and tree reconciliation. In: Katoh K (ed) Multiple Sequence Alignment – Methods and Protocols. *Methods in Molecular Biology*, Humana Press, New York, **2231**: 241–260. <https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1036-7>
- Green LE, Porras-Alfaro A, Sinsabaugh RL (2008) Translocation of nitrogen and carbon integrates biotic crust and grass production in desert grassland. *Journal of Ecology* **96**: 1076–1085. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01388.x>
- Grove JF, Pople M (1979) Metabolic products of *Fusarium larvarum* Fuckel. The fusarentins and the absolute configuration of monocerin. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* 2048–2051. <https://doi.org/10.1039/P19790002048>
- Guindon S, Dufayard J, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O (2010) New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* **59**: 307–321. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010>
- Halecker S, Wennrich J, Rodrigo S, Andrée N, Rabsch L, Baschien C, Steinert M, Stadler M, Surup F, Schulz B (2020) Fungal endophytes for biocontrol of ash dieback: the antagonistic potential of *Hypoxylon rubiginosum*. *Fungal Ecology* **45**: 100918. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2020.100918>

- Harwoko H, Lee J, Hartmann R, Mándi A, Kurtán T, Müller WEG, Feldbrügge M, Kalscheuer R, Ancheeva E, Daletos G, Frank M, Liu Z, Proksch P (2020) Azacoccones F–H, new flavipin-derived alkaloids from an endophytic fungus *Epicoccum nigrum* MK214079. *Fitoterapia* **146**: 104698. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104698>
- Hawkes CV, Belnap J, D’Antonio C, Firestone MK (2006) Arbuscular mycorrhizal assemblages in native plant roots change in the presence of invasive exotic grasses. *Plant and Soil* **281**: 369–380. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-4826-3>
- Herrera J, Khidir HH, Eudy DM, Porras-Alfaro A, Natvig DO, Sinsabaugh RL (2010) Shifting fungal endophyte communities colonize *Bouteloua gracilis*: effect of host tissue and geographical distribution. *Mycologia* **102**: 1012–1026. <https://doi.org/10.3852/09-264>
- Herrera J, Poudel R, Nebel KA, Collins SL (2011) Precipitation increases the abundance of some groups of root-associated fungal endophytes in a semiarid grassland. *Ecosphere* **2**: 50. <https://doi.org/10.1890/ES11-00001.1>
- Hosoe T, Fukushima K, Takizawa K, Itabashi T, Yoza K, Kawai K (2006) A new pyrrolidine-2,4-dione derivative, vermelhotin, isolated from unidentified fungus IFM 52672. *Heterocycles* **68**: 1949–1953.
- Hou L, He X, Li X, Wang S, Zhao L (2019) Species composition and colonization of dark septate endophytes are affected by host plant species and soil depth in the Mu Us sandland, northwest China. *Fungal Ecology* **39**: 276–284. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.01.001>
- Høyer AK, Hodkinson TR (2021) Hidden fungi: combining culture-dependent and -independent DNA barcoding reveals inter-plant variation in species richness of endophytic root fungi in *Elymus repens*. *Journal of Fungi* **7**: 466. <https://doi.org/10.3390/jof7060466>
- Ignatova L, Kistaubayeva A, Brazhnikova Y, Omirbekova A, Mukasheva T, Savitskaya I, Karpenyuk T, Goncharova A, Egamberdieva D, Sokolov A (2021) Characterization of cadmium-tolerant endophytic fungi isolated from soybean (*Glycine max*) and barley (*Hordeum vulgare*). *Heliyon* **7**: e08240. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08240>
- Islam MS, Zaman F, Iwasaki A, Suenaga K, Kato-Noguchi H (2019) Phytotoxic potential of *Chrysopogon aciculatus* (Retz.) Trin. (Poaceae). *Weed Biology and Management* **19**: 51–58. <https://doi.org/10.1111/wbm.12175>
- Jacobs J, Tehrani KA, De Kimpe N (2011) A survey of synthetic routes towards 2-azaaanthraquinones. *Tetrahedron* **67**: 9459–9471. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.10.017>
- Jayasuriya H, Zink DL, Polishook JD, Bills GF, Dombrowski AW, Genilloud O, Pelaez FF, Herranz L, Quamina D, Lingham RB, Danzeisen R, Graham PL, Tomassini JE, Singh SB (2005) Identification of diverse microbial metabolites as potent inhibitors of HIV-1 Tat transactivation. *Chemistry & Biodiversity* **2**: 112–122. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200490162>
- Jia M, Chen L, Xin H, Zheng C, Rahman K, Han T, Qin L (2016) A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review. *Frontiers in Microbiology* **7**: 906. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00906>
- Johansen RB, Johnston P, Mieczkowski P, Perry GLW, Robeson MS, Vilgalys R, Burns BR (2017) Scattered far and wide: a broadly distributed temperate dune grass finds familiar fungal root associates in its invasive range. *Soil Biology & Biochemistry* **112**: 177–190. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.05.007>

- Ju Z, Lin X, Lu X, Tu Z, Wang J, Kaliyaperumal K, Liu J, Tian Y, Xu S, Liu Y (2015) Botryoisocoumarin A, a new COX-2 inhibitor from the mangrove *Kandelia candel* endophytic fungus *Botryosphaeria* sp. KcF6. *The Journal of Antibiotics* **68**: 653–656. <https://doi.org/10.1038/ja.2015.46>
- Jurak E, Punt AM, Arts W, Kabel MA, Gruppen H (2015) Fate of carbohydrates and lignin during composting and mycelium growth of *Agaricus bisporus* on wheat straw based compost. *PLoS ONE* **10**: e0138909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138909>
- Kanai Y, Tatsumi Y, Tokiwa T, Watanabe Y, Fujimaki T, Ishiyama D, Okuda T (2005) F2928-1 and -2, new antifungal antibiotics from *Cladobotryum* sp. *The Journal of Antibiotics* **58**: 507–513. <https://doi.org/10.1038/ja.2005.68>
- Karlsson I, Friberg H, Kolseth A, Steinberg C, Persson P (2017) Organic farming increases richness of fungal taxa in the wheat phyllosphere. *Molecular Ecology* **26**: 3424–3436. <https://doi.org/10.1111/mec.14132>
- Kasettrathat C, Ngamrojanavanich N, Wiyakrutta S, Mahidol C, Ruchirawat S, Kittakoop P (2008) Cytotoxic and antiplasmodial substances from marine-derived fungi, *Nodulisporium* sp. and CRI247-01. *Phytochemistry* **69**: 2621–2626. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.08.005>
- Katoh K, Standley DM (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* **30**: 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Keller NP (2019) Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery. *Nature Reviews Microbiology* **17**: 167–180. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0121-1>
- Kertesz MA, Thai M (2018) Compost bacteria and fungi that influence growth and development of *Agaricus bisporus* and other commercial mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology* **102**: 1639–1650. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8777-z>
- Khambhati VH, Abbas HK, Sulyok M, Tomaso-Peterson M, Shier WT (2020) First report of the production of mycotoxins and other secondary metabolites by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. isolates from soybeans (*Glycine max* L.) symptomatic with charcoal rot disease. *Journal of Fungi* **6**: 332. <https://doi.org/10.3390/jof6040332>
- Khidir HH, Eudy DM, Porras-Alfaro A, Herrera J, Natvig DO, Sinsabaugh RL (2010) A general suite of fungal endophytes dominate the roots of two dominant grasses in a semiarid grassland. *Journal of Arid Environments* **74**: 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2009.07.014>
- Kiss K, Biri-Kovács B, Szabó R, Randelović I, Enyedi KN, Schlosser G, Orosz Á, Kapuvári B, Tóvári J, Mező G (2019) Sequence modification of heptapeptide selected by phage display as homing device for HT-29 colon cancer cells to improve the anti-tumour activity of drug delivery systems. *European Journal of Medicinal Chemistry* **176**: 105–116. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.016>
- Knapp DG, Imrefi I, Boldpurev E, Csíkos S, Akhmetova G, Berek-Nagy PJ, Otgonsuren B, Kovács GM (2019) Root-colonizing endophytic fungi of the dominant grass *Stipa krylovii* from a Mongolian steppe grassland. *Frontiers in Microbiology* **10**: 2565. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02565>
- Knapp DG, Kovács GM, Zajta E, Groenewald JZ, Crous PW (2015) Dark septate endophytic pleosporalean genera from semiarid areas. *Persoonia* **35**: 87–100. <https://doi.org/10.3767/003158515X687669>

- Knapp DG, Németh JB, Barry K, Hainaut M, Henrissat B, Johnson J, Kuo A, Lim JHP, Lipzen A, Nolan M, Ohm RA, Tamás L, Grigoriev IV, Spatafora JW, Nagy LG, Kovács GM (2018) Comparative genomics provides insights into the lifestyle and reveals functional heterogeneity of dark septate endophytic fungi. *Scientific Reports* **8**: 6321. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24686-4>
- Knapp DG, Pintye A, Kovács GM (2012) The dark side is not fastidious – dark septate endophytic fungi of native and invasive plants of semiarid sandy areas. *PLoS ONE* **7**: e32570. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032570>
- Ko B (1994) Synthesis and phytotoxic activities of (8S, 9S, 11R)-(-)-monocerin and (9S, 11R)-(+)-fusarentin 4, 5-dimethyl ether. *Agricultural Chemistry and Biotechnology* **37**: 402–408.
- Kobayashi H, Meguro S, Yoshimoto T, Namikoshi M (2003) Absolute structure, biosynthesis, and anti-microtubule activity of phomopsidin, isolated from a marine-derived fungus *Phomopsis* sp. *Tetrahedron* **59**: 455–459. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(02\)01566-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(02)01566-1)
- Kolařík M, Spakowitz DJ, Gazis R, Shaw J, Kubátová A, Nováková A, Chudíčková M, Forcina GC, Kang KW, Kelnarová I, Skaltsas D, Portero C, Strobel SA, Narváez-Trujillo A (2017) *Biatriospora* (Ascomycota: Pleosporales) is an ecologically diverse genus including facultative marine fungi and endophytes with biotechnological potential. *Plant Systematics and Evolution* **303**: 35–50. <https://doi.org/10.1007/s00606-016-1350-2>
- Kong F, Zhao C, Hao J, Wang C, Wang W, Huang X, Zhu W (2015) New α -glucosidase inhibitors from a marine sponge-derived fungus, *Aspergillus* sp. OUCMDZ-1583. *RSC Advances* **5**: 68852–68863. <https://doi.org/10.1039/C5RA11185D>
- Koukol O, Maciá-Vicente JG (2022) *Leptodophora* gen. nov. (Helotiales, Leotiomyces) proposed to accommodate selected root-associated members of the genus *Cadophora*. *Czech Mycology* **74**: 57–66. <https://doi.org/10.33585/cmy.74104>
- Koul A, Sumbali G (2008) Detection of zearalenone, zearalenol and deoxynivalenol from medicinally important dried rhizomes and root tubers. *African Journal of Biotechnology* **7**: 4136–4139.
- Kovács GM, Rudnóy S, Vágvölgyi C, Lásztity D, Rácz I, Bratek Z (2001) Intraspecific invariability of the internal transcribed spacer region of rDNA of the truffle *Terfezia terfezioides* in Europe. *Folia Microbiologica* **46**: 423–426. <https://doi.org/10.1007/BF02814433>
- Kovács GM, Szigetvári C (2002) Mycorrhizae and other root-associated fungal structures of the plants of a sandy grassland on the Great Hungarian Plain. *Phyton* **42**: 211–223.
- Kuhnert E, Heitkamp S, Fournier J, Surup F, Stadler M (2014) Hypoxyvermelhotins A–C, new pigments from *Hypoxyylon lechatii* sp. nov. *Fungal Biology* **118**: 242–252. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.12.003>
- Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016) MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* **33**: 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Kwon H, Choi EH, Choi U, Park S (2023) Biological production of epicoccamide-aglycon and its cytotoxicity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **96**: 129524. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2023.129524>

- Lai D, Wang A, Cao Y, Zhou K, Mao Z, Dong X, Tian J, Xu D, Dai J, Peng Y, Zhou L, Liu Y (2016) Bioactive dibenzo- α -pyrone derivatives from the endophytic fungus *Rhizopycnis vagum* Nitaf22. *Journal of Natural Products* **79**: 2022–2031. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00327>
- Lajkó E, Spring S, Hegedüs R, Biri-Kovács B, Ingebrandt S, Mező G, Köhidai L (2018) Comparative cell biological study of *in vitro* antitumor and antimetastatic activity on melanoma cells of GnRH-III-containing conjugates modified with short-chain fatty acids. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **14**: 2495–2509. <https://doi.org/10.3762/bjoc.14.226>
- Lan W, Lu F, Regner M, Zhu Y, Rencoret J, Ralph SA, Zakai UI, Morreel K, Boerjan W, Ralph J (2015) Tricin, a flavonoid monomer in monocot lignification. *Plant Physiology* **167**: 1284–1295. <https://doi.org/10.1104/pp.114.253757>
- Latz MAC, Kern MH, Sørensen H, Collinge DB, Jensen B, Brown JKM, Madsen AM, Jørgensen HJL (2021) Succession of the fungal endophytic microbiome of wheat is dependent on tissue-specific interactions between host genotype and environment. *Science of the Total Environment* **759**: 143804. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143804>
- Le DH, Takenaka Y, Hamada N, Tanahashi T (2013) Eremophilane-type sesquiterpenes from cultured lichen mycobionts of *Sarcographa tricosia*. *Phytochemistry* **91**: 242–248. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.01.009>
- Leyte-Lugo M, González-Andrade M, González MC, Glenn AE, Cerda-García-Rojas CM, Mata R (2012) (+)-Ascosalitoxin and vermelhotin, a calmodulin inhibitor, from an endophytic fungus isolated from *Hintonia latiflora*. *Journal of Natural Products* **75**: 1571–1577. <https://doi.org/10.1021/np300327y>
- Li J, Jiang H, Jeewon R, Hongsan S, Bhat DJ, Tang S, Lumyong S, Mortimer PE, Xu J, Camporesi E, Bulgakov TS, Zhao G, Suwannarach N, Phookamsak R (2023) *Alternaria*: update on species limits, evolution, multi-locus phylogeny and classification. *Studies in Fungi* **8**: 1. <http://doi.org/sif-0024-0001>
- Li M, Hou L, Liu J, Yang J, Zuo Y, Zhao L, He X (2021) Growth-promoting effects of dark septate endophytes on the non-mycorrhizal plant *Isatis indigotica* under different water conditions. *Symbiosis* **85**: 291–303. <https://doi.org/10.1007/s13199-021-00813-0>
- Li M, Pu Y, Yoo CG, Ragauskas AJ (2016) The occurrence of tricin and its derivatives in plants. *Green Chemistry* **18**: 1439–1454. <https://doi.org/10.1039/C5GC03062E>
- Li R, Chen S, Niu S, Guo L, Yin J, Che Y (2014) Exserolides A–F, new isocoumarin derivatives from the plant endophytic fungus *Exserohilum* sp. *Fitoterapia* **96**: 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.04.013>
- Li S (2010) Prenylated indole derivatives from fungi: structure diversity, biological activities, biosynthesis and chemoenzymatic synthesis. *Natural Product Reports* **27**: 57–78. <https://doi.org/10.1039/B909987P>
- Li X, He X, Hou L, Ren Y, Wang S, Su F (2018) Dark septate endophytes isolated from a xerophyte plant promote the growth of *Ammopiptanthus mongolicus* under drought condition. *Scientific Reports* **8**: 7896. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26183-0>
- Liao M, Wang K, Ren J, Liu L, Cai L, Han J, Liu H (2019) 2H-Pyranone and isocoumarin derivatives isolated from the plant pathogenic fungus *Leptosphaena maculans*. *Journal of Asian Natural Products Research* **21**: 939–946. <https://doi.org/10.1080/10286020.2018.1485661>

- Lim C (1999) Monocerin and ziganein: Phytotoxins from pathogenic fungus *Exserohilum monoceras* Inu-1. *Agricultural Chemistry and Biotechnology* **42**: 45–47.
- Lin C, Huang R, Liu J, Li H, Zhu L, Huang X, Ding B, Liu L, Huang H, Tao Y (2023) Antibacterial polyketides isolated from the marine-derived fungus *Fusarium solani* 8388. *Journal of Fungi* **9**: 875. <https://doi.org/10.3390/jof9090875>
- Lin T, Lin X, Lu C, Shen Y (2011) Secondary metabolites of *Pyrenochaeta* sp. B36, an endophytic fungus from *Annona squamosa* L. *Natural Product Research* **25**: 1008–1013. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.534997>
- Lin Y, Ou J, Chrn C, Kuo Y (1998) Eremophilanes from *Petasites formosanus* Kitamura. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **46**: 1807–1809. <https://doi.org/10.1248/cpb.46.1807>
- Liu Q, Huang Y, Linghu C, Xiao J, Gu R (2023) Metabolic profiling, *in situ* spatial distribution, and biosynthetic pathway of functional metabolites in *Dendrobium nobile* stem revealed by combining UPLC-QTOF-MS with MALDI-TOF-MSI. *Frontiers in Plant Science* **13**: 1125872. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1125872>
- Liu X, Wu Q, Shi Y (2005) Terpenoids from the flower of *Cacalia tangutica*. *Journal of the Chinese Chemical Society* **52**: 369–374. <https://doi.org/10.1002/jccs.200500055>
- Liu Z, Zhang S, Cheewangkoon R, Zhao Q, Liu J (2022) *Crassoascoma* gen. nov. (Lentitheciaceae, Pleosporales): unrevealing microfungi from the Qinghai-Tibet Plateau in China. *Diversity* **14**: 15. <https://doi.org/10.3390/d14010015>
- Lu L, Karunarathna SC, Dai D, Jayawardena RS, Suwannarach N, Tibpromma S (2022) Three new species of *Nigrograna* (Dothideomycetes, Pleosporales) associated with arabica coffee from Yunnan Province, China. *Mycologia* **94**: 51–71. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.94.95751>
- Lugo MA, Menoyo E, Allione LR, Negritto MA, Henning JA, Anton AM (2018) Arbuscular mycorrhizas and dark septate endophytes associated with grasses from the Argentine Puna. *Mycologia* **110**: 654–665. <https://doi.org/10.1080/00275514.2018.1492846>
- Łuszczynski J, Łuszczynska B, Tomaszewska A, Sobas K, Kostrzewa M, Grudzień K (2014) *Flammulina ononidis* – first record in Poland. *Acta Mycologica* **49**: 79–85. <https://doi.org/10.5586/am.2014.007>
- Lünne F, Köhler J, Stroh C, Müller L, Daniliuc CG, Mück-Lichtenfeld C, Würthwein E, Esselen M, Humpf H, Kalinina SA (2021) Insights into ergochromes of the plant pathogen *Claviceps purpurea*. *Journal of Natural Products* **84**: 2630–2643. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.1c00264>
- Maciá-Vicente JG, Piepenbring M, Koukol O (2020) Brassicaceous roots as an unexpected diversity hot-spot of helotialean endophytes. *IMA Fungus* **11**, 16. <https://doi.org/10.1186/s43008-020-00036-w>
- Maciá-Vicente JG, Shi Y, Cheikh-Ali Z, Grün P, Glynou K, Kia SH, Piepenbring M, Bode HB (2018) Metabolomics-based chemotaxonomy of root endophytic fungi for natural products discovery. *Environmental Microbiology* **20**: 1253–1270. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14072>
- Macías-Rubalcava ML, Garrido-Santos MY (2022) Phytotoxic compounds from endophytic fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology* **106**: 931–950. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11773-w>

- Magan N (1988) Fungal colonization and decomposition of cereal straw. *International Biodeterioration* **24**: 435–443. [https://doi.org/10.1016/0265-3036\(88\)90031-0](https://doi.org/10.1016/0265-3036(88)90031-0)
- Mandyam K, Jumpponen A (2005) Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology* **53**: 173–189. <https://doi.org/10.3114/sim.53.1.173>
- Mao Z, Zhang W, Wu C, Feng H, Peng Y, Shahid H, Cui Z, Ding P, Shan T (2021) Diversity and antibacterial activity of fungal endophytes from *Eucalyptus exserta*. *BMC Microbiology* **21**: 155. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02229-8>
- Marx DH (1969) The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology* **59**: 153–163.
- Matulja D, Grbčić P, Bojanić K, Topić-Popović N, Čož-Rakovac R, Laclef S, Šmuc T, Jović O, Marković D, Pavelić SK (2021) Chemical evaluation, antioxidant, antiproliferative, anti-inflammatory and antibacterial activities of organic extract and semi-purified fractions of the Adriatic Sea fan, *Eunicella cavolini*. *Molecules* **26**: 5751. <https://doi.org/10.3390/molecules26195751>
- McGee CF, Byrne H, Irvine A, Wilson J (2017) Diversity and dynamics of the DNA- and cDNA-derived compost fungal communities throughout the commercial cultivation process for *Agaricus bisporus*. *Mycologia* **109**: 475–484. <https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1349498>
- Mitova MI, Lang G, Blunt JW, Cummings NJ, Cole ALJ, Robinson WT, Munro MHG (2006) Cladobotric acids A–F: new cytotoxic polyketides from a New Zealand *Cladobotryum* sp. *The Journal of Organic Chemistry* **71**: 492–497. <https://doi.org/10.1021/jo051883l>
- Mo X, Li Q, Ju J (2014) Naturally occurring tetramic acid products: isolation, structure elucidation and biological activity. *RSC Advances* **4**: 50566–50593. <https://doi.org/10.1039/C4RA09047K>
- Mocek U, Schultz L, Buchan T, Baek C, Fretto L, Nzerem J, Sehl L, Sinha U (1996) Isolation and structure elucidation of five new asterriquinones from *Aspergillus*, *Humicola* and *Botryotrichum* species. *The Journal of Antibiotics* **49**: 854–859. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.49.854>
- Molnár A, Knapp DG, Lovas M, Tóth G, Boldizsár I, Váczy KZ, Kovács GM (2023) Untargeted metabolomic analyses support the main phylogenetic groups of the common plant-associated *Alternaria* fungi isolated from grapevine (*Vitis vinifera*). *Scientific Reports* **13**: 19298. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46020-3>
- Moni F, Saifullah N, Afroz F, Rony SR, Sharmin S, Shahinuzzaman ADA, Al-Mansur MA, Al-Reza SM, Sohrab MH (2022) Antibacterial and cytotoxic compounds from endophyte *Fusarium solani* isolated from *Centella asiatica* (L.). *Journal of Biologically Active Products from Nature* **12**: 436–449. <https://doi.org/10.1080/22311866.2022.2144947>
- Mortimer PE, Jeewon R, Xu J, Lumyong S, Wanasinghe DN (2021) Morpho-phylo taxonomy of novel dothideomycetous fungi associated with dead woody twigs in Yunnan Province, China. *Frontiers in Microbiology* **12**: 654683. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.654683>

- Muhammad I, Wang R, Xiao Y, Xie Y, Hassan SS, Wu G, Qian X, Jin H (2021) Chemical constituents of *Parasenecio quinquelobus*. *Chemistry of Natural Compounds* **57**: 190–193. <https://doi.org/10.1007/s10600-021-03316-y>
- Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* **8**: 4321–4326. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>
- NajeerAhamed MJ, Soundharajan R, Srinivasan H (2021) Green nanoparticles synthesized from endophytic fungi (*Colletotrichum gloeosporioides*) break antibiotic resistance in pathogenic *E.coli*. (Preprint from *Research Square*) <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-775865/v1>
- Namikoshi M, Kobayashi H, Yoshimoto T, Hosoya T (1997) Phomopsidin, a new inhibitor of microtubule assembly produced by *Phomopsis* sp. isolated from coral reef in Pohnpei. *The Journal of Antibiotics* **50**: 890–892. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.50.890>
- Nan J, Chao L, Ma X, Xu D, Mo L, Zhang X, Zhao X, Bao Y (2020) Microbial diversity in the rhizosphere soils of three *Stipa* species from the eastern Inner Mongolian grasslands. *Global Ecology and Conservation* **22**: e00992. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e00992>
- Naumann B, Eberius M, Appenroth K (2007) Growth rate based dose-response relationships and EC-values of ten heavy metals using the duckweed growth inhibition test (ISO 20079) with *Lemna minor* L. clone St. *Journal of Plant Physiology* **164**: 1656–1664. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.10.011>
- Nisa H, Kamili AN, Nawchoo IA, Shafi S, Shameem N, Bandh SA (2015) Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: a review. *Microbial Pathogenesis* **82**: 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.04.001>
- Opatz T, Kolshorn H, Thines E, Anke H (2008) Ascomycones A–C, heptaketide metabolites from an unidentified ascomycete. *Journal of Natural Products* **71**: 1973–1976. <https://doi.org/10.1021/np800570w>
- Orbán E, Manea M, Marquadt A, Bánóczy Z, Csík G, Fellingner E, Bősze S, Hudecz F (2011) A new daunomycin–peptide conjugate: synthesis, characterization and the effect on the protein expression profile of HL-60 cells *in vitro*. *Bioconjugate Chemistry* **22**: 2154–2165. <https://doi.org/10.1021/bc2004236>
- Pansanit A, Park E, Kondratyuk TP, Pezzuto JM, Lirdprapamongkol K, Kittakoop P (2013) Vermelhotin, an anti-inflammatory agent, suppresses nitric oxide production in RAW 264.7 cells via p38 inhibition. *Journal of Natural Products* **76**: 1824–1827. <https://doi.org/10.1021/np400565e>
- Parisot D, Devys M, Barbier M (1989) 5-deoxybostrycoidin, a new metabolite produced by the fungus *Nectria haematococca* (Berk. and Br.) Wr. *Zeitschrift für Naturforschung B* **44b**: 1473–1474. <https://doi.org/10.1515/znb-1989-1125>
- Pascualt N, Cécillon L, Mathieu O, Hénault C, Sarr A, Lévêque J, Farcy P, Ranjard L, Maron P (2010) *In situ* dynamics of microbial communities during decomposition of wheat, rape, and alfalfa residues. *Microbial Ecology* **60**: 816–828. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9705-7>

- Pereira E, Vázquez de Aldana BR, San Emeterio L, Zabalgogeaazcoa I (2019) A survey of culturable fungal endophytes from *Festuca rubra* subsp. *pruinosa*, a grass from marine cliffs, reveals a core microbiome. *Frontiers in Microbiology* **9**: 3321. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03321>
- Phookamsak R, Wanasinghe DN, Hongsan S, Phukhamsakda C, Huang S, Tennakoon DS, Norphanphoun C, Camporesi E, Bulgakov TS, Promputtha I, Mortimer PE, Xu J, Hyde KD (2017) Towards a natural classification of *Ophiobolus* and ophiobolus-like taxa; introducing three novel genera *Ophiobolopsis*, *Paraophiobolus* and *Pseudoophiobolus* in Phaeosphaeriaceae (Pleosporales). *Fungal Diversity* **87**: 299–339. <https://doi.org/10.1007/s13225-017-0393-1>
- Pili NN, França SC, Kyndt T, Makumba BA, Skilton R, Höfte M, Mibey RK, Gheysen G (2016) Analysis of fungal endophytes associated with rice roots from irrigated and upland ecosystems in Kenya. *Plant and Soil* **405**: 371–380. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2590-6>
- Pinheiro EAA, Pina JRS, Feitosa AO, Carvalho JM, Borges FC, Marinho PSB, Marinho AMR (2017) Bioprospecting of antimicrobial activity of extracts of endophytic fungi from *Bauhinia guianensis*. *Revista Argentina de Microbiología* **49**: 3–6. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.08.005>
- Porrás-Alfaro A, Bayman P (2011) Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annual Review of Phytopathology* **49**: 291–315. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081831>
- Porrás-Alfaro A, Herrera J, Sinsabaugh RL, Odenbach KJ, Lowrey T, Natvig DO (2008) Novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. *Applied and Environmental Microbiology* **74**: 2805–2813. <https://doi.org/10.1128/AEM.02769-07>
- Pourmoghaddam MJ, Lambert C, Surup F, Khodaparast SA, Krisai-Greilhuber I, Voglmayr H, Stadler M (2020) Discovery of a new species of the *Hypoxylon rubiginosum* complex from Iran and antagonistic activities of *Hypoxylon* spp. against the ash dieback pathogen, *Hymenoscyphus fraxineus*, in dual culture. *MycKeys* **66**: 105–133. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.66.50946>
- Priac A, Badot P, Crini G (2017) Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: focus on germination and root elongation test parameters. *Comptes Rendus Biologies* **340**: 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2017.01.002>
- Promputtha I, Hyde KD, McKenzie EHC, Peberdy JF, Lumyong S (2010) Can leaf degrading enzymes provide evidence that endophytic fungi becoming saprobes? *Fungal Diversity* **41**: 89–99. <https://doi.org/10.1007/s13225-010-0024-6>
- Qin C, Lin X, Lu X, Wan J, Zhou X, Liao S, Tu Z, Xu S, Liu Y (2015) Sesquiterpenoids and xanthenes derivatives produced by sponge-derived fungus *Stachybotry* sp. HH1 ZSDS1F1-2. *The Journal of Antibiotics* **68**: 121–125. <https://doi.org/10.1038/ja.2014.97>
- Raja H, Miller AN, Pearce CJ, Oberlies NH (2017) Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. *Journal of Natural Products* **80**: 756–770. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085>
- Rajeshkumar KC, Varma RK, Sruthi OP, Gautam AK, Crous PW (2023) *Groenewaldia* (Lentitheciaceae), a new corticolous fungal genus from India. *Mycological Progress* **22**: 43. <https://doi.org/10.1007/s11557-023-01888-3>

- Rana KL, Kour D, Kaur T, Devi R, Yadav AN, Yadav N, Dhaliwal HS, Saxena AK (2020) Endophytic microbes: biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. *Antonie van Leeuwenhoek* **113**: 1075–1107. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01429-y>
- Rehner SA, Buckley E (2005) A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia* **97**: 84–98. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832842>
- Rehner SA, Samuels GJ (1994) Taxonomy and phylogeny of *Gliocladium* analysed from nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Mycological Research* **98**: 625–634. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80409-7](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80409-7)
- Riolo M, Luz C, Santilli E, Meca G, Cacciola SO (2023) Secondary metabolites produced by four *Colletotrichum* species *in vitro* and on fruits of diverse olive cultivars. *Fungal Biology* **127**: 1118–1128. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2023.06.003>
- Robeson DJ, Strobel GA (1982) Monocerin, a phytotoxin from *Exserohilum turcicum* (= *Drechslera turcica*). *Agricultural and Biological Chemistry* **46**: 2681–2683. <https://doi.org/10.1080/00021369.1982.10865494>
- Rodriguez RJ, White Jr JF, Arnold AE, Redman RS (2009) Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist* **182**: 314–330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>
- Romero-Jiménez M, Rudgers JA, Jumpponen A, Herrera J, Hutchinson M, Kuske C, Dunbar J, Knapp DG, Kovács GM, Porras-Alfaro A (2022) *Darksidea phi*, sp. nov., a dark septate root-associated fungus in foundation grasses in North American Great Plains. *Mycologia* **114**: 254–269. <https://doi.org/10.1080/00275514.2022.2031780>
- Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* **19**: 1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Rudgers JA, Fox S, Porras-Alfaro A, Herrera J, Reazin C, Kent DR, Souza L, Chung YA, Jumpponen A (2022) Biogeography of root-associated fungi in foundation grasses of North American plains. *Journal of Biogeography* **49**: 22–37. <https://doi.org/10.1111/jbi.14260>
- Rupcic Z, Chepkirui C, Hernández-Restrepo M, Crous PW, Luangsa-Ard JJ, Stadler M (2018) New nematicidal and antimicrobial secondary metabolites from a new species in the new genus, *Pseudobambusicola thailandica*. *Mycologia* **33**: 1–23. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.33.23341>
- Ryckeboer J, Mergaert J, Vaes K, Klammer S, de Clercq D, Coosemans J, Insam H, Swings J (2003) A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Annals of Microbiology* **53**: 349–410.
- Saikkonen K, Faeth SH, Helander M, Sullivan TJ (1998) Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **29**: 319–343. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.319>
- Sappapan R, Sommit D, Ngamrojanavanich N, Pengpreecha S, Wiyakrutta S, Sriubolmas N, Pudhom K (2008) 11-Hydroxymonocerin from the plant endophytic fungus *Exserohilum rostratum*. *Journal of Natural Products* **71**: 1657–1659. <https://doi.org/10.1021/np8004024>

- Sánchez C (2010) Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology* **85**: 1321–1337. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2343-7>
- Schmidt CS, Mrnka L, Lovecká P, Frantík T, Fenclová M, Demnerová K, Vosátka M (2021) Bacterial and fungal endophyte communities in healthy and diseased oilseed rape and their potential for biocontrol of *Sclerotinia* and *Phoma* disease. *Scientific Reports* **11**: 3810. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81937-7>
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* **9**: 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA, Chen W, and Fungal Barcoding Consortium (2012) Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**: 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- Schulz B, Boyle C (2005) The endophytic continuum. *Mycological Research* **109**: 661–686. <https://doi.org/10.1017/S095375620500273X>
- Schulz B, Boyle C, Draeger S, Römmert A, Krohn K (2002) Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research* **106**: 996–1004. <https://doi.org/10.1017/S0953756202006342>
- Shen H, Bao D, Boonmee S, Su X, Tian X, Hyde KD, Luo Z (2023) Lignicolous freshwater fungi from plateau lakes in China (I): morphological and phylogenetic analyses reveal eight species of Lentitheciaceae, including new genus, new species and new records. *Journal of Fungi* **9**: 962. <https://doi.org/10.3390/jof9100962>
- Shiono Y, Muslihah NI, Suzuki T, Arieftha NR, Anwar C, Nurjanto HH, Aboshi T, Murayama T, Tawarayama K, Koseki T, Yoshida J, Usukhbayar N, Uesugi S, Kimura K (2017) New eremophilane and dichlororesorcinol derivatives produced by endophytes isolated from *Ficus ampelas*. *The Journal of Antibiotics* **70**: 1133–1137. <https://doi.org/10.1038/ja.2017.125>
- Sieber TN, Grünig CR (2013) Fungal root endophytes. In: Eshel A, Beeckman T (eds) *Plant Roots: The Hidden Half*, 4th ed, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, 38. fejezet.
- Silvestro D, Michalak I (2012) raxmlGUI: a graphical front-end for RAxML. *Organisms Diversity & Evolution* **12**: 335–337. <https://doi.org/10.1007/s13127-011-0056-0>
- Simmons MP, Ochoterena H, Carr TG (2001) Incorporation, relative homoplasy, and effect of gap characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology* **50**: 454–462. <https://www.jstor.org/stable/3070935>
- Siyoun NA, Surridge K, van der Linde EJ, Korsten L (2016) Microbial succession in white button mushroom production systems from compost and casing to a marketable packed product. *Annals of Microbiology* **66**: 151–164. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1091-4>
- Staden R, Beal KF, Bonfield JK (2000) The Staden package, 1998. In: Misener S, Krawetz SA (eds) *Bioinformatics – Methods and Protocols*, *Methods in Molecular Biology*, Humana Press, Totowa, **132**: 115–130. <https://doi.org/10.1385/1-59259-192-2:115>
- Stamatakis A (2014) RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* **30**: 1312–1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>

- Steffens JC, Robeson DJ (1987) Secalonic acid A, a vivotoxin in pink root-infected onion. *Phytochemistry* **26**: 1599–1602. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)82252-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)82252-9)
- Steglińska A, Sulyok M, Janas R, Grzesik M, Liszkowska W, Kręgiel D, Gutarowska B (2023) Metabolite formation by fungal pathogens of potatoes (*Solanum tuberosum* L.) in the presence of bioprotective agents. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **20**: 5221. <https://doi.org/10.3390/ijerph20065221>
- Stodůlková E, Man P, Kuzma M, Černý J, Císařová I, Kubátová A, Chudičková M, Kolařík M, Flieger M (2015) A highly diverse spectrum of naphthoquinone derivatives produced by the endophytic fungus *Biatriospora* sp. CCF 4378. *Folia Microbiologica* **60**: 259–267. <https://doi.org/10.1007/s12223-014-0366-7>
- Straatsma G, Samson RA (1993) Taxonomy of *Scytalidium thermophilum*, an important thermophilic fungus in mushroom compost. *Mycological Research* **97**: 321–328. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)81129-5](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)81129-5)
- Straatsma G, Samson RA, Olijnsma TW, Op den Camp HJM, Gerrits JPG, Van Griensven LJLD (1994) Ecology of thermophilic fungi in mushroom compost, with emphasis on *Scytalidium thermophilum* and growth stimulation of *Agaricus bisporus* mycelium. *Applied and Environmental Microbiology* **60**: 454–458. <https://doi.org/10.1128/aem.60.2.454-458.1994>
- Su Y, Guo L, Hyde KD (2010) Response of endophytic fungi of *Stipa grandis* to experimental plant function group removal in Inner Mongolia steppe, China. *Fungal Diversity* **43**: 93–101. <https://doi.org/10.1007/s13225-010-0040-6>
- Suekaew N, Na Pombejra S, Kulsing C, Doungchawee J, Khotavivattana T (2020) Bioassay-guided fractionation, chemical compositions and antibacterial activity of extracts from rhizomes of *Globba schomburgkii* Hook.F. *Chemistry & Biodiversity* **17**: e2000173. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000173>
- Sugama K, Hayashi K, Nakagawa T, Mitsushashi H, Yoshida N (1983) Sesquiterpenoids from *Petasites fragrans*. *Phytochemistry* **22**: 1619–1622. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(83\)80099-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(83)80099-5)
- Sugawara K, Sugawara F, Strobel GA, Fu Y, Cun-Heng H, Clardy J (1985) Exserohilone: a novel phytotoxin produced by *Exserohilum holmii*. *The Journal of Organic Chemistry* **50**: 5631–5633. <https://doi.org/10.1021/jo00350a040>
- Székely AJ, Sipos R, Berta B, Vajna B, Hajdú C, Márialigeti K (2009) DGGE and T-RFLP analysis of bacterial succession during mushroom compost production and sequence-aided T-RFLP profile of mature compost. *Microbial Ecology* **57**: 522–533. <https://doi.org/10.1007/s00248-008-9424-5>
- Tabata Y, Hatsu M, Kurata Y, Miyajima K, Tani M, Sasaki T, Kodama Y, Tsuruoka T, Omoto S (1997a) PF1092A, B and C, new nonsteroidal progesterone receptor ligands produced by *Penicillium oblatum* II. Physico-chemical properties and structure elucidation. *The Journal of Antibiotics* **50**: 309–313. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.50.309>
- Tabata Y, Miike N, Hatsu M, Kurata Y, Yaguchi T, Someya A, Miyadoh S, Hoshiko S, Tsuruoka T, Omoto S (1997b) PF1092A, B and C, new nonsteroidal progesterone receptor ligands produced by *Penicillium oblatum* I. Taxonomy of producing strain, fermentation, isolation and biological activities. *The Journal of Antibiotics* **50**: 304–308. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.50.304>

- Talontsi FM, Dittrich B, Schöffler A, Sun H, Laatsch H (2013) Epicoccolides: antimicrobial and antifungal polyketides from an endophytic fungus *Epicoccum* sp. associated with *Theobroma cacao*. *European Journal of Organic Chemistry* **2013**: 3174–3180. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201300146>
- Talontsi FM, Islam MT, Facey P, Douanla-Meli C, von Tiedemann A, Laatsch H (2012) Depsidones and other constituents from *Phomopsis* sp. CAFT69 and its host plant *Endodesmia calophylloides* with potent inhibitory effect on motility of zoospores of grapevine pathogen *Plasmopara viticola*. *Phytochemistry Letters* **5**: 657–664. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2012.06.017>
- Tanaka K, Hirayama K, Yonezawa H, Sato G, Toriyabe A, Kudo H, Hashimoto A, Matsumura M, Harada Y, Kurihara Y, Shirouzu T, Hosoya T (2015) Revision of the Massarineae (Pleosporales, Dothideomycetes). *Studies in Mycology* **82**: 75–136. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.10.002>
- Tang S, Men P, Zhang W, Li H, Li Z, Huang X, Lu X (2022) Identification of a polyketide biosynthesis gene cluster by transcriptional regulator activation in *Aspergillus terreus*. *Fungal Genetics and Biology* **160**: 103690. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2022.103690>
- Tapfuma KI, Uche-Okerefor N, Sebola TE, Hussan R, Mekuto L, Makatini MM, Green E, Mavumengwana V (2019) Cytotoxic activity of crude extracts from *Datura stramonium*'s fungal endophytes against A549 lung carcinoma and UMG87 glioblastoma cell lines and LC-QTOF-MS/MS based metabolite profiling. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **19**: 330. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2752-9>
- Thai M, Safianowicz K, Bell TL, Kertesz MA (2022) Dynamics of microbial community and enzyme activities during preparation of *Agaricus bisporus* compost substrate. *ISME Communications* **2**: 88. <https://doi.org/10.1038/s43705-022-00174-9>
- Tianpanich K, Prachya S, Wiyakrutta S, Mahidol C, Ruchirawat S, Kittakoop P (2011) Radical scavenging and antioxidant activities of isocoumarins and a phthalide from the endophytic fungus *Colletotrichum* sp. *Journal of Natural Products* **74**: 79–81. <https://doi.org/10.1021/np1003752>
- Tran-Cong NM, Mándi A, Kurtán T, Müller WEG, Kalscheuer R, Lin W, Liu Z, Proksch P (2019) Induction of cryptic metabolites of the endophytic fungus *Trichocladium* sp. through OSMAC and co-cultivation. *RSC Advances* **9**: 27279. <https://doi.org/10.1039/C9RA05469C>
- Tripodi AAP, Randelović I, Biri-Kovács B, Szeder B, Mező G, Tóvári J (2020) *In vivo* tumor growth inhibition and antiangiogenic effect of cyclic NGR peptide-daunorubicin conjugates developed for targeted drug delivery. *Pathology & Oncology Research* **26**: 1879–1892. <https://doi.org/10.1007/s12253-019-00773-3>
- Uzma F, Mohan CD, Hashem A, Konappa NM, Rangappa S, Kamath PV, Singh B, Mudili V, Gupta VK, Siddaiah CN, Chowdappa S, Alqarawi AA, Abd-Allah EF (2018) Endophytic fungi – alternative sources of cytotoxic compounds: a review. *Frontiers in Pharmacology* **9**: 309. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00309>
- Vajna B, Szili D, Nagy A, Márialigeti K (2012) An improved sequence-aided T-RFLP analysis of bacterial succession during oyster mushroom substrate preparation. *Microbial Ecology* **64**: 702–713. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0063-5>

- Vanhoutte I, De Mets L, De Boevre M, Uka V, Di Mavungu JD, De Saeger S, De Gelder L, Audenaert K (2017) Microbial detoxification of deoxynivalenol (DON), assessed via a *Lemna minor* L. bioassay, through biotransformation to 3-epi-DON and 3-epi-DOM-1. *Toxins* **9**: 63. <https://doi.org/10.3390/toxins9020063>
- Vilgalys R, Hester M (1990) Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology* **172**: 4238–4246. <https://doi.org/10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990>
- Wang C, Li J, Yang R, Zhao Y, Cheng Y, Zhang Z, He L (2014) Petasins from the rhizomes of *Ligularia fischeri* and its derivatives. *Records of Natural Products* **8**: 156–164.
- Wang Q, Juan J, Xiao T, Zhang J, Chen H, Song X, Chen M, Huang J (2021) The physical structure of compost and C and N utilization during composting and mushroom growth in *Agaricus bisporus* cultivation with rice, wheat and reed straw-based composts. *Applied Microbiology and Biotechnology* **105**: 3811–3823. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11284-0>
- Wang XW, Yang FY, Meijer M, Kraak B, Sun BD, Jiang YL, Wu YM, Bai FY, Seifert KA, Crous PW, Samson RA, Houbraken J (2019) Redefining *Humicola* sensu stricto and related genera in the Chaetomiaceae. *Studies in Mycology* **93**: 65–153. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.07.001>
- Wang Z, Jiang S, Struik PC, Wang H, Jin K, Wu R, Na R, Mu H, Ta N (2022) Plant and soil responses to grazing intensity drive changes in the soil microbiome in a desert steppe. *Plant and Soil* **491**: 219–237. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05409-1>
- Wangun HVK, Dahse H, Hertweck C (2007) Epicoccamides B–D, glycosylated tetramic acid derivatives from an *Epicoccum* sp. associated with the tree fungus *Pholiota squarrosa*. *Journal of Natural Products* **70**: 1800–1803. <https://doi.org/10.1021/np070245q>
- Watanabe Y, Yoshida Y, Tokiwa T, Higo M, Ban S, Ikeda A, Noguchi Y, Hirose T, Sunazuka T, Nonaka K, Yaguchi T, Iwatsuki M (2022) Hakuhybotric acid, a new anti-fungal polyketide produced by a mycoparasitic fungus *Hypomyces pseudocorticicola* FKI-9008. *Journal of General and Applied Microbiology* **68**: 200–206. <https://doi.org/10.2323/jgam.2022.03.002>
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, New York, 38. fejezet. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1>
- Wiese J, Ohlendorf B, Blümel M, Schmaljohann R, Imhoff JF (2011) Phylogenetic identification of fungi isolated from the marine sponge *Tethya aurantium* and identification of their secondary metabolites. *Marine Drugs* **9**: 561–585. <https://doi.org/10.3390/md9040561>
- Wright AD, Osterhage C, König GM (2003) Epicoccamide, a novel secondary metabolite from a jellyfish-derived culture of *Epicoccum purpurascens*. *Organic & Biomolecular Chemistry* **1**: 507–510. <https://doi.org/10.1039/B208588G>
- Xie F, Luan X, Gao Y, Xu K, Lou H (2020) Cytotoxic heptaketides from the endolichenic fungus *Ulospora bilgramii*. *Journal of Natural Products* **83**: 1623–1633. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00108>

- Xie G, Kong X, Kang J, Su N, Fei J, Luo G (2021a) Fungal community succession contributes to product maturity during the co-composting of chicken manure and crop residues. *Bioresource Technology* **328**: 124845. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124845>
- Xie L, Bi Y, Li X, Wang K, Christie P (2021b) Soil fungal community in grazed Inner Mongolian grassland adjacent to coal-mining activity. *Frontiers in Microbiology* **12**: 718727. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.718727>
- Yang E, Phookamsak R, Jiang H, Tibpromma S, Bhat DJ, Karunarathna SC, Dai D, Xu J, Promputtha I (2022) Taxonomic reappraisal of Periconiaceae with the description of three new *Periconia* species from China. *Journal of Fungi* **8**: 243. <https://doi.org/10.3390/jof8030243>
- Yang H, Peng X, Gao H, Zhang H, Wang Z, Li G, Lou H (2021) Pleosporalins H and I, two new heptaketides from the endophytic fungus *Pleosporales* sp. F46 by using OSMAC strategy. *Natural Product Research* **35**: 3307–3313. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1698573>
- Yang L, Wen K, Ruan X, Zhao Y, Wei F, Wang Q (2018) Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules* **23**: 762. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- Yang X, Jin H, Xu L, Cui H, Xin A, Liu H, Qin B (2020a) Diversity and functions of endophytic fungi associated with roots and leaves of *Stipa purpurea* in an alpine steppe at Qinghai-Tibet Plateau. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **30**: 1027–1036. <https://doi.org/10.4014/jmb.2002.02056>
- Yang X, Zhang J, Ding Q, He Z, Zhu C, Zhang K, Niu X (2020b) Metabolites from two dominant thermophilic fungal species *Thermomyces lanuginosus* and *Scytalidium thermophilum*. *Chemistry & Biodiversity* **17**: e2000137. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000137>
- Yao W, Cai D, Huang F, Mohamed TA, Li P, Qiao X, Wu J (2023) Promoting lignin exploitability in compost: a cooperative microbial depolymerization mechanism. *Process Safety and Environmental Protection* **174**: 856–868. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2023.05.003>
- Ye L, Zhang B, Yang X, Huang Y, Luo J, Zhang X, Tan W, Song C, Ao Z, Shen C, Li X (2024) Metabolomic profiling reveals biomarkers for diverse flesh colors in jelly fungi (*Auricularia cornea*). *Food Chemistry* **446**: 138906. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138906>
- Ye Y, Dawa D, Liu G, Zhao M, Tseden D, Gu Y, Ding L, Cao Z, Zhou Y (2018) Anti-proliferative sesquiterpenoids from *Ligularia rumicifolia* with diverse skeletons. *Journal of Natural Products* **81**: 1992–2003. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00197>
- Yu H, Zhang J, Chen Y, Zhu J (2022) Zearalenone and its masked forms in cereals and cereal-derived products: a review of the characteristics, incidence, and fate in food processing. *Journal of Fungi* **8**: 976. <https://doi.org/10.3390/jof8090976>
- Yuan T, Ren W, Wang Z, Fry EL, Tang S, Yin J, Zhang J, Jia Z (2023) How does the pattern of root metabolites regulating beneficial microorganisms change with different grazing pressures? *Frontiers in Plant Science* **14**: 1180576. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1180576>

- Yurchenko AN, Smetanina OF, Kalinovskii AI, Kirichuk NN, Yurchenko EA, Afiyatulloev SS (2013) Biologically active metabolites of the facultative marine fungus *Penicillium citrinum*. *Chemistry of Natural Compounds* **48**: 996–998.
<https://doi.org/10.1007/s10600-013-0447-x>
- Zaher AM, Moharram AM, Davis R, Panizzi P, Makboul MA, Calderón AI (2015) Characterisation of the metabolites of an antibacterial endophyte *Botryodiplodia theobromae* Pat. of *Dracaena draco* L. by LC-MS/MS. *Natural Product Research* **29**: 2275–2281. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1012715>
- Zang L, Wei W, Wang T, Guo Y, Tan R, Ge H (2012) Isochromophilones from an endophytic fungus *Diaporthe* sp. *Natural Products and Bioprospecting* **2**: 117–120.
<https://doi.org/10.1007/s13659-012-0023-2>
- Zhang T, Cai G, Rong X, Xu J, Jiang B, Wang H, Li X, Wang L, Zhang R, He W, Yu L (2022) Mining and characterization of the PKS–NRPS hybrid for epicoccamide A: a mannosylated tetramate derivative from *Epicoccum* sp. CPCC 400996. *Microbial Cell Factories* **21**: 249. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01975-2>
- Zhang W, Krohn K, Draeger S, Schulz B (2008) Bioactive isocoumarins isolated from the endophytic fungus *Microdochium bolleyi*. *Journal of Natural Products* **71**: 1078–1081. <https://doi.org/10.1021/np800095g>
- Zhang X, Zhong Y, Yang S, Zhang W, Xu M, Ma A, Zhuang G, Chen G, Liu W (2014) Diversity and dynamics of the microbial community on decomposing wheat straw during mushroom compost production. *Bioresource Technology* **170**: 183–195.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.093>
- Zhang Y, Schoch CL, Fournier J, Crous PW, de Gruyter J, Woudenberg JHC, Hirayama K, Tanaka K, Pointing SB, Spatafora JW, Hyde KD (2009) Multi-locus phylogeny of Pleosporales: a taxonomic, ecological and evolutionary re-evaluation. *Studies in Mycology* **64**: 85–102. <https://doi.org/10.3114/sim.2009.64.04>
- Zhou Y, Zhang M, Zhu R, Zhang J, Xie F, Li X, Chang W, Wang X, Zhao Z, Lou H (2016) Heptaketides from an endolichenic fungus *Biatriospora* sp. and their antifungal activity. *Journal of Natural Products* **79**: 2149–2157.
<https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00998>
- Zuo Y, Su F, He X, Li M (2020) Colonization by dark septate endophytes improves the growth of *Hedysarum scoparium* under multiple inoculum levels. *Symbiosis* **82**: 201–214.
<https://doi.org/10.1007/s13199-020-00713-9>

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni Dr. Kovács M. Gábor és Dr. Boldizsár Imre témavezetőimnek a kutatásaim során nyújtott segítséget.

Köszönöm szépen Dr. Böddi Béla korábbi tanszékvezetőnek, hogy annak idején az ELTE Növénysszervezettani Tanszékén kezdhettem meg munkáimat.

Köszönöm szépen a Növénysszervezettani Tanszék, valamint a mikológiai kutatócsoport korábbi és jelenlegi munkatársainak segítségét, továbbá Dr. Márialigeti Károly és Dr. Vajna Balázs (ELTE Mikrobiológiai Tanszék) szakmai javaslatait.

Köszönöm továbbá Dr. Mazákné Krasznai Márta, Dr. Tóth Gergő (SOTE Gyógyszerészi Kémiai Intézet) és Dr. Darcsi András (Nemzeti Népegészségügyi és Gyógyszerészeti Központ) a munkáim során izolált vegyületek azonosításában, valamint Dr. Bősze Szilvia (ELTE Szerves Kémiai Tanszék), Dr. Dobay Orsolya (SOTE Orvosi Mikrobiológiai Intézet) és Csíkos Sándor (ELTE Növénysszervezettani Tanszék) a vegyületek bioaktivitásának tesztelésében nyújtott segítségét.

A dolgozatban szereplő kutatásaim az alábbi szervezetek, pályázatok támogatásával valósultak meg: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (K135712, KH130401, K109102, K139026, NVKP_16-1-2016-0035, NKFIH-1157-8/2019-DT és TKP2020-IKA-05 ELTE 2020 Térmaterületi Kiválósági Program, Diagnosztika és terápia, VEKOP-2.3.3-15-2017-00020), EFOP-1.8.0-VEKOP-17-2017-00001.

11. FÜGGELÉK

11.1 A gombák DNS régióinak felszaporítása

A különböző növényi részekből izolált gombák azonosításához a sejtmagi riboszomális DNS (nrDNS) Internal Transcribed Spacer (ITS) régióját minden esetben felszaporítottuk ITS-PCR vagy direkt ITS-PCR keretében, az alkalmazott reakcióelegyekre és -profilokra vonatkozó információk az alábbiakban olvashatók.

Az ITS-PCR reakcióelegy 25 µL térfogatú volt, összetételét az F.1.A táblázat tartalmazza. Az ITS-PCR profilja az alábbiak szerint alakult: 5 perc kezdeti denaturáció (olvasztás) 94 °C-on, 35 cikluson keresztül ciklusonként 30 másodperc denaturáció 94 °C-on, 30 másodperc annealing (kapcsolódás) 52 °C-on és 40 másodperc extenzió (hosszabbítás) 72 °C-on, a 35 ciklust követően pedig 10 perc végső extenzió 72 °C-on.

F.1.A táblázat. ITS-PCR reakcióelegyenek összetétele.

összetevők	összetevők mennyisége (µL)
milli-Q víz	14,1
DreamTaq puffer (10×)	2,5
dNTP mix (2 mM)	2,5
ITS1F primer (10 µM)	1,25
ITS4 primer (10 µM)	1,25
DreamTaq DNS-polimeráz enzim	0,4
templát DNS (DNS kivonat)	3,0

A milli-Q víz a Lonza (Bázel, Svájc), míg a templát DNS kivételével az összes többi összetevő a Thermo Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts, USA) terméke.

A direkt ITS-PCR esetében a reakcióelegy 20 µL térfogatú volt, összetételét a Phire Plant Direct PCR Kit és a Phire Plant Direct PCR Master Mix Kit alkalmazása esetén rendre az F.1.B és F.1.C táblázatok tartalmazzák. A direkt ITS-PCR profilja az alábbiak szerint alakult: 5 perc kezdeti denaturáció 98 °C-on, 40 cikluson keresztül ciklusonként 5 másodperc denaturáció 98 °C-on, 5 másodperc annealing 55 °C-on és 20 másodperc extenzió 72 °C-on, a 40 ciklust követően pedig 1 perc végső extenzió 72 °C-on.

F.1.B táblázat. Direkt ITS-PCR reakcióelegyenek összetétele a Phire Plant Direct PCR Kit alkalmazása esetén.

összetevők	összetevők mennyisége (µL)
milli-Q víz	6,6
Phire Plant PCR puffer (2×) ¹	10,0
ITS1F primer (10 µM)	1,0
ITS4 primer (10 µM)	1,0
Phire Hot Start II DNS-polimeráz enzim	0,4
templát DNS (Dilution pufferben)	1,0

A milli-Q víz a Lonza (Bázel, Svájc) terméke, míg az összes többi összetevő, beleértve a templát DNS kinyerésére szolgáló Dilution puffert is, a Phire Plant Direct PCR Kit (Thermo Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts, USA)) része.

¹Benne van a reakcióhoz szükséges dNTP mix.

F.1.C táblázat. Direkt ITS-PCR reakcióelegyének összetétele a Phire Plant Direct PCR Master Mix Kit alkalmazása esetén.

összetevők	összetevők mennyisége (μL)
milli-Q víz	7,0
Phire Plant PCR puffer (2×) ¹	10,0
ITS1F primer (10 μM)	1,0
ITS4 primer (10 μM)	1,0
templát DNS (Dilution pufferben)	1,0

A milli-Q víz a Lonza (Bázel, Svájc) terméke, míg az összes többi összetevő, beleértve a templát DNS kinyerésére szolgáló Dilution puffert is, a Phire Plant Direct PCR Master Mix Kit (Thermo Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts, USA)) része.

¹Benne van a reakcióhoz szükséges dNTP mix, valamint a Phire Hot Start II DNS-polimeráz enzim is.

F.2. táblázat. A vizsgált *Flavomyces fulophazii* izolátumok és eredetük, ITS szekvenciáik azonosítói. Berek-Nagy és mtsai (2021) 1. táblázat módosítva.

izolátum azonosító	további izolátum/törzs azonosító	gyűjtés helye (ország)	gazdanövény	gyűjtés ideje (évszak)	referencia	ITS ^a GenBank azonosító
HF-1	flavo_01	Magyarország	<i>Festuca vaginata</i>	tavas	Berek-Nagy és mtsai 2021	MW438310
HF-2	flavo_04	Magyarország	<i>F. vaginata</i>	tavas	Berek-Nagy és mtsai 2021	MW438311
HF-3	flavo_05	Magyarország	<i>F. vaginata</i>	tavas	Berek-Nagy és mtsai 2021	MW438312
HF-4	flavo_06	Magyarország	<i>F. vaginata</i>	tavas	Berek-Nagy és mtsai 2021	MW438313
HF-5	flavo_08	Magyarország	<i>F. vaginata</i>	tavas	Berek-Nagy és mtsai 2021	MW438314
HF-6	flavo_09	Magyarország	<i>F. vaginata</i>	tavas	Berek-Nagy és mtsai 2021	MW438315
HF-7	flavo_11	Magyarország	<i>F. vaginata</i>	tavas	Berek-Nagy és mtsai 2021	MW438316
HF-8	flavo_13	Magyarország	<i>F. vaginata</i>	tavas	Berek-Nagy és mtsai 2021	MW438317
HF-9	DSE8/143 = CBS 135664	Magyarország	<i>F. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP184000
HF-10	DSE8/S = CBS 135761 (T)	Magyarország	<i>F. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP184001
MF-1	MF03	Mongólia	<i>Stipa krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537657
MF-2	MF04	Mongólia	<i>S. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537658
MF-3	MF05	Mongólia	<i>S. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537659
MF-4	MF06	Mongólia	<i>S. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537660
MF-5	MF07	Mongólia	<i>S. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537661
MF-6	MF08	Mongólia	<i>S. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537662
MF-7	MF09 = DSE8309	Mongólia	<i>S. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537663

^a A sejtmagi riboszomális DNS (nrDNS) Internal Transcribed Spacer (ITS) régiója.

F.3. táblázat. A vizsgált *Darksidea* izolátumok és eredetük, DNS szekvenciáik azonosítói.

faj	izolátum azonosító	törzs azonosító	gyűjtés helye (ország)	gazdanövény	gyűjtés ideje (évszak)	referencia	GenBank azonosító ^a			
							ITS	LSU	TEF	TUB
<i>Darksidea alpha</i>	DSE 7 01	CBS 135627	Magyarország	<i>Bromus tectorum</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183966	KP184005	KP184160	KP184192
	DSE 7 04	CBS 135630	Magyarország	<i>Stipa borysthénica</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183987	KP184032	KP184162	KP184195
	DSE 7 05	CBS 135631	Magyarország	<i>Festuca vaginata</i>	ősz	Knapp és mtsai 2015	KP183968	KP184033	KP184180	KP184196
	DSE 7 06	CBS 135632	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	ősz	Knapp és mtsai 2015	KP183969	KP184034	KP184181	KP184197
	DSE 7 15	CBS 135641	Magyarország	<i>Ailanthus altissima</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183970	KP184037	KP184163	KP184205
	DSE 7 16	CBS 135642	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183967	KP184026	KP184182	KP184206
	DSE 7 17	CBS 135643	Magyarország	<i>St. borysthénica</i>	tavas	Knapp és mtsai 2015	KP183988	KP184022	KP184171	KP184207
	DSE 7 19	CBS 135645	Magyarország	<i>St. borysthénica</i>	tavas	Knapp és mtsai 2015	KP183990	KP184036	KP184172	KP184209
	DSE 7 20	CBS 135646	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183994	KP184015	KP184164	KP184210
	DSE 7 24	CBS 135650	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183998	KP184019	KP184166	KP184214
	DSE 7 26	CBS 135652	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183992	KP184020	KP184168	KP184216
	DSE 7 27	CBS 135653	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183995	KP184021	KP184169	KP184217
	DSE 7 28	CBS 135654	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183972	KP184010	KP184176	KP184218
	DSE 7 30	CBS 135656	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183971	KP184007	KP184178	KP184220
	D Fest 3		Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	-	OR242577	OR242524	-	-
	DS 38		Egyesült Államok	<i>Andropogon gerardii</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808738	MT002071	MT321323	MN982905
	DS 49		Egyesült Államok	<i>Bouteloua dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808785	MT002072	MT321324	MN982906
	DS 138		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808327	OR242525	-	-
	DS 145		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808377	OR242526	-	-
	DS 151		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808405	OR242527	-	-
	DS 154		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808429	MT002073	MT321325	MN982907
	DS 192		Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808578	MT002074	MT321326	MN982908
	DS 195		Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808581	MT002077	MT321328	MN982911
	DS 200		Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808586	OR242528	-	-
	DS 213		Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808596	OR242529	-	-
	DS 219		Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808599	OR242530	-	-
	DS 227		Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808605	OR242531	-	-
	DS 237		Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808614	OR242532	-	-
	DS 242		Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808619	OR242533	-	-
	DS 244		Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808621	OR242534	-	-
	DS 296		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808668	MT002081	MT321332	MN982915
	DS 297		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808669	OR242535	-	-
	DS 301		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808673	OR242536	-	-
	DS 305		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808677	OR242537	-	-
	DS 306		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808678	OR242538	-	-
	DS 307		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808679	OR242539	-	-
	DS 308		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808680	MT002082	MT321333	MN982916
	DS 312		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808683	OR242540	-	-
	DS 317		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808687	OR242541	-	-

	DS 319		Egyesült Államok	<i>Bo. eriopoda</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808689	MT002084	MT321334	MN982918
	DS 330		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808700	OR242542	-	-
	DS 351		Egyesült Államok	<i>Bo. eriopoda</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808721	OR242543	-	-
	DS 355		Egyesült Államok	<i>Bo. eriopoda</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808724	OR242544	-	-
	DS 356		Egyesült Államok	<i>Bo. eriopoda</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808725	MT002085	-	MN982919
	DS 362		Egyesült Államok	<i>Bo. eriopoda</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808730	OR242545	-	-
	DS 428	CBS 148436	Egyesült Államok	<i>Bo. eriopoda</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808749	MT002086	MT321335	OR233655
	DS 429	CBS 148437	Egyesült Államok	<i>Bo. eriopoda</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808750	OR242546	-	-
	DS 439		Egyesült Államok	<i>Bo. eriopoda</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808760	OR242547	-	-
	DS 1164		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808154	OR242548	-	-
	DS 1324	CBS 148438	Egyesült Államok	<i>Bo. eriopoda</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808281	OR242549	-	-
	KG 37		Kazahsztán	<i>Triticum aestivum</i>	ősz	-	OR242578	OR242550	OR250670	-
	KG 91		Kazahsztán	<i>T. aestivum</i>	ősz	-	OR242579	OR242551	OR250671	-
	KG 235		Kazahsztán	<i>St. capillata</i>	ősz	-	OR242580	OR242552	OR250672	-
	MD 06		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537590	MN515231	MN535231	-
	MD 07		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537591	MN515232	MN535232	-
	MD 24		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537608	MN515241	MN535240	OR233637
	MD 29		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537613	MN515244	MN535242	-
	P2969	DSM 110856	Németország	<i>Microthlaspi perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT270165	OR242553	OR250673	OR233638
	P6013	DSM 110854	Németország	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT270207	OR242554	OR250674	-
	P6097	DSM 110860	Németország	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT270290	OR242555	OR250675	-
	TU 30		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537693	MN515272	MN535269	-
<i>D. beta</i>	DSE 7 11	CBS 135637	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183978	KP184023	KP184189	KP184201
<i>D. gamma</i>	DSE 7 07	CBS 135633	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183984	KP184031	KP184187	KP184198
	DSE 7 08	CBS 135634	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183985	KP184028	KP184188	KP184199
<i>D. delta</i>	DSE 7 03	CBS 135629	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183980	KP184006	KP184183	KP184194
	DSE 7 13	CBS 135639	Magyarország	<i>Fumana procumbens</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183982	KP184027	KP184185	KP184203
	KG 409		Kazahsztán	<i>T. aestivum</i>	ősz	-	OR242581	OR242556	OR250676	-
	KG 537		Kazahsztán	<i>Hordeum leporinum</i>	ősz	-	OR242582	OR242557	OR250677	-
	P1314	DSM 110832	Spanyolország	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT268609	OR242558	OR250678	OR233639
	P2754	DSM 110847	Görögország	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT269954	OR242559	OR250679	OR233640
<i>D. epsilon</i>	DSE 7 32	CBS 135658	Magyarország	<i>S. borysthenica</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183983	KP184029	KP184186	KP184222
	P2393	DSM 110846	France	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT269627	OR242560	OR250680	OR233641
	P2394	DSM 110845	France	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT269628	OR242561	OR250681	OR233642
	P2499	DSM 110842	Spanyolország	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT269728	OR242562	OR250682	OR233643
	P2872	DSM 110844	Németország	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT270069	OR242563	OR250683	OR233644
	P2990	DSM 110839	Németország	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT270185	OR242564	OR250684	OR233645
<i>D. zeta</i>	DSE 7 14	CBS 135640	Magyarország	<i>Fe. vaginata</i>	nyár	Knapp és mtsai 2015	KP183979	KP184013	KP184191	KP184204
	DS 361		Egyesült Államok	<i>Bo. eriopoda</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808729	OR242576	-	OR233654
	DS 1424		Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808358	MT002091	-	MN982924
	MD 63		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537646	MN515257	MN535255	-
	MD 64		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537647	MN515258	MN535256	-
	TU 33		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537696	MN515274	MN535271	-

	TU 38		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537701	MN515276	MN535273	-
	TU 39		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537702	MN515277	MN535274	-
<i>D. eta</i> nom. prov.	DS 232	CBS 148433	Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808610	OR242565	OR250685	-
	DS 246	CBS 148434	Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808623	MT002080	MT321331	MN982914
	MD 61		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537644	MN515255	MN535253	-
	TU 57	CBS 148423	Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537718	MN515286	MN535284	-
	TU 58		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537719	MN515287	MN535285	-
<i>D. theta</i> nom. prov.	DS 318	CBS 148435	Egyesült Államok	<i>Bo. eriopoda</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808688	MT002083	OR250694	MN982917
	DS 916	CBS 148432	Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808998	MT002088	MT321336	MN982921
<i>D. iota</i> nom. prov.	MD 65		Mongólia	<i>St. krylovii</i>	ősz	Knapp és mtsai 2019	MN537648	OR242566	OR250686	OR233646
<i>D. kappa</i> nom. prov.	P2491	DSM 110836	Spanyolország	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT269720	OR242567	OR250687	OR233647
	P2519	DSM 110852	Spanyolország	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT269748	OR242568	OR250688	OR233648
<i>D. lambda</i> nom. prov.	SP 55	CBS 148426	Spanyolország	<i>Fe. rubra subsp. pruinosa</i>	nyár	-	OR242583	OR242569	OR250689	OR233649
	P2988	DSM 110851	Németország	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT270184	OR242570	OR250690	OR233650
<i>D. phi</i>	DS 193		Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808579	MT002075	MT321327	MN982909
	DS 194	CBS 148427	Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808580	MT002076	-	MN982910
	DS 211		Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808594	MT002078	-	MN982912
	DS 697	CBS 148431	Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	OR242584	OR242572	-	-
	DS 919	CBS 148429	Egyesült Államok	<i>Bo. dactyloides</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK809001	MT002089	MT321337	MN982922
	DS 925	CBS 148430	Egyesült Államok	<i>Schizachyrium scoparium</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	OR242585	OR242573	-	-
	DS 1626	CBS 148428	Egyesült Államok	<i>Bo. gracilis</i>	nyár	Romero-Jiménez és mtsai 2022	MK808491	MT002092	-	MN982925
<i>D. omega</i> nom. prov.	P1376	DSM 110838	Spanyolország	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT268671	OR242571	OR250691	OR233651
<i>Darksidea</i> sp.	P1774	DSM 110834	Bulgária	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT269046	OR242574	OR250692	OR233652
<i>Darksidea</i> sp.	P1825	DSM 110835	Bulgária	<i>M. perfoliatum</i>	tavas	Glynou és mtsai 2016	KT269097	OR242575	OR250693	OR233653

^a A sejtmagi riboszomális DNS (nrDNS) Internal Transcribed Spacer (ITS) régiója, a részleges 28S nrDNS (LSU), a transzlációs elongációs faktor 1- α gén (*TEF1- α*), valamint a β -tubulin gén (*β TUB*) szekvenciáinak azonosítói.

F.4. táblázat. Csiperketermesztésre szolgáló komposzt előállítás során mintatípusonként és gyártási soronként izolált endofiton gombák.

minták típusai		izolátumok száma és rendszertani besorolása gyártási soronként (S1–S6) és mintatípusonként																				
		S1			S2			S3			S4			S5			S6					
		rend	nemzetség	sz.	rend	nemzetség	sz.	rend	nemzetség	sz.	rend	nemzetség	sz.	rend	nemzetség	sz.	rend	nemzetség	sz.			
ázott növényi alapanyagok típusai	áb	Pl	<i>Alternaria</i>	1	Eu	<i>Aspergillus</i>	1	Eu	<i>Aspergillus</i>	2	fel nem dolgozott minta			fel nem dolgozott minta			hiányzó minta					
		Hy	<i>Fusarium</i>	4	Eu	<i>Penicillium</i>	2	Hy	<i>Fusarium</i>	1												
		Hy	<i>Trichoderma</i>	2				Hy	<i>Trichoderma</i>	1												
								Po	<i>Phanerochaete</i>	1												
								Mu	<i>Lichtheimia</i>	2												
	áÁ	Pl	<i>Alternaria</i>	1	Eu	<i>Penicillium</i>	1	Eu	<i>Penicillium</i>	1	hiányzó minta			hiányzó minta			hiányzó minta					
		Eu	<i>Aspergillus</i>	1				Ag	<i>Hormographiella</i>	1												
		Hy	<i>Fusarium</i>	1																		
		Hy	<i>Trichoderma</i>	2																		
	áR	nincs izolátum			Eu	<i>Penicillium</i>	1	hiányzó minta			hiányzó minta			hiányzó minta			hiányzó minta					
					Hy	<i>Trichoderma</i>	4															
					At	<i>Athelia</i>	1															
	trágyaminták típusai	CsT	nincs izolátum			Eu	<i>Aspergillus</i>	1	nincs izolátum			fel nem dolgozott minta			fel nem dolgozott minta			hiányzó minta				
		LT	Do	<i>Aureobasidium</i>	1	Eu	<i>Penicillium</i>	1	Sa	<i>Galactomyces</i>	1	nincs izolátum			fel nem dolgozott minta			Eu	<i>Aspergillus</i>	1		
			Pl	<i>Alternaria</i>	2	Sa	<i>Galactomyces</i>	1	So	<i>Chaetomium</i> s.l.	2							So	<i>Corynascus</i>	1		
Eu			<i>Aspergillus</i>	2	Hy	<i>Fusarium</i>	4	Xy	<i>Nigrospora</i>	1	Mu							<i>Rhizopus</i>	2			
			Hy	<i>Trichoderma</i>	1	Mu	<i>Lichtheimia</i>	3														
			So	<i>Triangularia</i>	1	Mu	<i>Rhizopus</i>	1														
			Mu	<i>Mucor</i>	2																	
			Mu	<i>Rhizopus</i>	1																	
komposztminták típusai		BT	Eu	<i>Aspergillus</i>	3	Eu	<i>Aspergillus</i>	1	Eu	<i>Aspergillus</i>	12	Eu	<i>Aspergillus</i>	2	Eu	<i>Aspergillus</i>	7	Mu	<i>Mucor</i>	1		
	Hy		<i>Trichoderma</i>	1	Eu	<i>Penicillium</i>	3	Eu	<i>Penicillium</i>	2	So	<i>Chaetomium</i> s.l.	2	Eu	<i>Penicillium</i>	3						
	Mu		<i>Lichtheimia</i>	1	Hy	<i>Trichoderma</i>	3	So	<i>Chaetomium</i> s.l.	1	So	<i>Corynascus</i>	1	Hy	<i>Fusarium</i>	2						
	Mu		<i>Mucor</i>	2				Mu	<i>Lichtheimia</i>	3	Mu	<i>Lichtheimia</i>	3	Mu	<i>Lichtheimia</i>	2						
	ÁR1	Eu	<i>Aspergillus</i>	3	Eu	<i>Aspergillus</i>	1	nincs izolátum			Ca	<i>Cladosporium</i>	3	Eu	<i>Aspergillus</i>	4	Eu	<i>Aspergillus</i>	1			
		Eu	<i>Penicillium</i>	1	Sa	<i>Galactomyces</i>	1				Pl	<i>Alternaria</i>	1	Mu	<i>Lichtheimia</i>	2						
		Mu	<i>Mucor</i>	1	So	<i>Chaetomium</i> s.l.	1				Pl	<i>Epicoccum</i>	1	Mu	<i>Mucor</i>	5						
											Ve	<i>Ochroconis</i>	1									

								Hy	Fusarium	3								
								Mu	Rhizopus	1								
ÁR2	nincs izolátum			nincs izolátum			nincs izolátum			Ca	Cladosporium	1	Eu	Penicillium	2	Eu	Aspergillus	4
										Hy	Fusarium	1				Mu	Lichtheimia	2
										Mi	Scopulariopsis	1						
										Mu	Rhizomucor	1						
KSz	Eu	Penicillium	1	nincs izolátum			Ca	Cladosporium	1	Eu	Aspergillus	2	nincs izolátum			nincs izolátum		
	Sa	Galactomyces	1				Eu	Aspergillus	1	So	Mycothermus	3						
							So	Mycothermus	3									
ÁT	Eu	Aspergillus	1	So	Mycothermus	6	Pl	Alternaria	1	fel nem dolgozott minta			So	Mycothermus	4	nincs izolátum		
							So	Mycothermus	6									
KT	nincs izolátum (csiperke tenyészetain túl)			So	Mycothermus	1	nincs izolátum (csiperke tenyészetain túl)			hiányzó minta			fel nem dolgozott minta			Eu	Aspergillus	1
				(csiperke tenyészetain túl)												(csiperke tenyészetain túl)		

sz.: izolátumok száma (a *Mycothermus* izolátumok száma S2-ÁT, S3-ÁT és S5-ÁT minták, valamint a *Penicillium* izolátumok száma S6-KT minta esetében jóval magasabb lenne, ha a táptalajra helyezett növényi részekből növekedésnek indult összes tenyészetüket izoláltuk volna).

Penicillium izolátumok alatt, pusztán a sejtmagi riboszomális DNS (nrDNS) ITS szekvenciája alapján egyértelműen meg nem határozható *Penicillium* vagy *Talaromyces* izolátumok értendők.
Mintatípusok: ázott búzaszalma (áB), ázott árpaszalma (áÁ), ázott repceszalma (áR), (szalmás) csirketrágya (CsT), (szalmás) lótrágya (LT), bunkertöltés (BT), első átrakás (ÁR1), második átrakás (ÁR2), kisedés (KSz), áttárolás (ÁT) és kitárolás (KT).

A technológiai vízben ázott növényi alapanyagokból származó izolátumok kék, míg az első, második és harmadik fázisú komposztmintákból származó izolátumok rendre zöld, piros és sárga háttérrel vannak jelölve.

Izolátumok reprezentálta rendek: Agaricales (Ag), Atheliales (At), Capnodiales (Ca), Dothideales (Do), Eurotiales (Eu), Hypocreales (Hy), Microascales (Mi), Mucorales (Mu), Pleosporales (Pl), Polyporales (Po), Saccharomycetales (Sa), Sordariales (So), Venturiales (Ve), Xylariales (Xy).

F.5. táblázat. *Flavomyces fulophazii* tenyészetekben azonosított tetrámsav típusú vegyületek (1–5) protonált molekuláiból keletkező fragmentum ionok relatív intenzitásai. Berek-Nagy és mtsai (2021) S1. táblázat módosítva.

vegyület sorszáma és neve	CID (eV)	A szerkezetükkel (sz) ^a és tömeg/töltés (<i>m/z</i>) értékükkel megadott jellegzetes ionok relatív intenzitásai (%) ^{b, c} a különböző ütközési energiák függvényében					
1 dihidroxil- vermelhotin		sz→	[M+H] ⁺	[M+H-H ₂ O] ⁺	[M+H-a] ⁺	[M+H-C ₂ H ₄ O ₂] ⁺	[M+H-a-H ₂ O] ⁺ [M+H-C ₂ H ₄ O ₂ -HCN] ⁺
		<i>m/z</i> →	252.09	234.08	208.06	192.07	190.05 165.05
	10		70.3	16.0	100.0	8.0	8.3 2.0
	20		4.5	11.4	84.0	36.4	100.0 65.1
	30		-	-	6.8	6.2	31.0 100.0
2 hidroxil- vermelhotin		sz→	[M+H] ⁺	[M+H-H ₂ O] ⁺	[M+H-a] ⁺	[M+H-H ₂ O-HCN] ⁺	[M+H-a-HCN] ⁺
		<i>m/z</i> →	236.09	218.08	192.07	191.07	165.05
	10		51.5	4.0	100.0	-	16.5
	20		0.8	7.7	36.7	6.8	100.0
	30		-	1.0	-	9.2	100.0
3 oxo- vermelhotin		sz→	[M+H] ⁺		[M+H-a] ⁺		[M+H-a-HCN] ⁺
		<i>m/z</i> →	234.08		192.07		165.05
	10		100.0		43.2		15.3
	20		13.4		4.4		100.0
	30		-		4.7		100.0
4 metoxil- vermelhotin		sz→	[M+H] ⁺	[M+H-CH ₃ OH] ⁺	[M+H-a] ⁺	[M+H-CH ₃ OH-HCN] ⁺	[M+H-a-HCN] ⁺
		<i>m/z</i> →	250.11	218.08	192.07	191.07	165.05
	10		100.0	11.7	30.7	-	3.1
	20		14.6	63.4	99.0	22.8	100.0
	30		-	6.6	7.3	30.1	100.0
5 vermelhotin		sz→	[M+H] ⁺			[M+H-HCN] ⁺	
		<i>m/z</i> →	218.08			191.07	
	10		100.0			21.4	
	20		18.7			100.0	
	30		-			100.0	

^a Az ionok szerkezete esetében az „a” betű a láncvégi, hidroxil- (10.B, C ábrák), oxo- (10.D ábra) vagy metoxilcsoport (10.E ábra) szubsztituálta C12-C13 etilcsoport kilépésére utal.

^b A legnagyobb intenzitású (100%) ionhoz viszonyítva.

^c Az ionintenzitások meghatározására az F.5. ábrán látható HR-MS/MS spektrumok szolgáltak.

CID (collision induced dissociation energy): ütközési energia (10, 20, 30 eV).

F.6. táblázat. *Flavomyces fulophazii* tenyészetekben azonosított azafilon típusú, karboxilcsoportot nem tartalmazó vegyületek (**8–10, 12**) protonált molekuláiból keletkező fragmentum ionok relatív intenzitásai. Berek-Nagy és mtsai (2021) S2. táblázat módosítva.

vegyület sorszáma és neve		CID (eV)	A szerkezetükkel (sz) ^a és tömeg/töltés (<i>m/z</i>) értékükkel megadott jellegzetes ionok relatív intenzitásai (%) ^{b, c} a különböző ütközési energiák függvényében										
8 flavoklorin A		sz→ <i>m/z</i> →	[M+H] ⁺ 296.10	[M+H-b] ⁺ 281.08	[M+H-a] ⁺ 252.08		[M+H-a-b] ⁺ 237.06	[M+H-a-c] ⁺ 223.04	[M+H-a-d] ⁺ 209.02		[M+H-a-c-f] ⁺ 208.02	[g+H] ⁺ 180.02	[g+H-CHClO] ⁺ 116.05
	15		100.0	4.4	9.1		2.4	1.4	2.2		-	-	-
	30		80.2	28.9	100.0		89.3	31.0	79.1		0.92	3.6	-
	45		-	-	7.3		100.0	33.1	97.5		12.8	81.0	-
	75		-	-	-		-	-	2.1		1.5	100.0	24.5
9 flavoklorin B		sz→ <i>m/z</i> →	[M+H] ⁺ 252.08	[M+H-b] ⁺ 237.06		[M+H-c] ⁺ 223.04	[M+H-d] ⁺ 209.02				[M+H-c-f] ⁺ 208.02	[g+H] ⁺ 180.02	[g+H-CHClO] ⁺ 116.05
	15		100.0	6.3		0.8	-				-	0.7	-
	30		15.8	100.0		15.4	0.86				3.0	19.1	-
	45		-	7.8		2.6	0.81				2.7	100.0	1.4
	75		-	-		-	-				-	100.0	97.9
10 flavoklorin C		sz→ <i>m/z</i> →	[M+H] ⁺ 310.12	[M+H-b] ⁺ 295.10	[M+H-a] ⁺ 266.09		[M+H-a-b] ⁺ 251.07	[M+H-a-c] ⁺ 237.05	[M+H-a-d] ⁺ 223.04	[M+H-a-e] ⁺ 209.02		[g+H] ⁺ 180.02	[g+H-CHClO] ⁺ 116.05
	15		100.0	1.4	0.96		-	0.3	0.4	-		-	-
	30		79.9	59.2	53.3		47.3	21.3	100.0	-		0.9	-
	45		-	2.2	4.7		29.0	17.9	100.0	0.9		25.1	-
	75		-	-	-		-	-	-	-		85.6	19.2
12 flavoklorin D		sz→ <i>m/z</i> →	[M+H] ⁺ 253.06	[M+H-b] ⁺ 238.04		[M+H-c] ⁺ 224.02					[M+H-c-f] ⁺ 209.00	[g+H] ⁺ 181.00	[g+H-CHClO] ⁺ 117.03
	15		100.0	2.6		1.3					0.2	-	-
	30		59.2	100.0		83.1					32.8	16.0	1.3
	45		-	1.9		5.2					52.4	100.0	26.7
	75		-	-		-					-	-	47.0

^a Az „a”–„g” betűkkel jelölt fragmentumok a 12. ábrán látható fragmentumoknak felelnek meg.

^b A legnagyobb intenzitású (100%) ionhoz viszonyítva.

^c Az ionintenzitások meghatározására az F.6.C, C', D, D', E, E', G, G' ábrákon látható HR-MS/MS spektrumok szolgáltak.

CID (collision induced dissociation energy): ütközési energia (15, 30, 45, 75 eV).

F.7. táblázat. *Flavomyces fulophazii* tenyészetekben azonosított azafilon típusú, karboxilcsoportot tartalmazó vegyületek (**6**, **7**, **11**) protonált molekuláiból keletkező fragmentum ionok relatív intenzitásai. Berek-Nagy és mtsai (2021) S3. táblázat módosítva.

vegyület sorszáma és neve	CID (eV)	A szerkezetükkel (sz) ^a és tömeg/töltés (<i>m/z</i>) értékükkel megadott jellegzetes ionok relatív intenzitásai (%) ^{b, c} a különböző ütközési energiák függvényében													
6 flavoklorin E	sz→	[M+H] ⁺	[M+H-CH ₂ O] ⁺	[M+H-CH ₄ O ₂] ⁺	[M+H-CO ₂ -H ₂ O] ⁺	[M+H-CO ₂ -H ₂ O-b] ⁺	[M+H-a] ⁺	[M+H-CO ₂ -H ₂ O-c] ⁺	[M+H-a-b] ⁺	[M+H-a-c] ⁺		[M+H-a-d] ⁺	[g+H] ⁺	[g+H-CHClO]	
	<i>m/z</i> →	340.09	310.08	292.07	278.09	263.07	252.08	249.06	237.06	223.04		209.02	180.02	116.05	
	15	100.0	4.1	60.0	1.4	-	-	-	-	-		-	-	-	
	30	71.6	100.0	21.2	100.0	25.4	23.5	8.8	72.2	39.8		18.5	0.9	-	
	45	-	2.9	-	18.4	56.6	14.8	61.7	100.0	84.8		74.1	48.8	-	
	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-		2.6	100.0	11.3	
7 flavoklorin F	sz→	[M+H] ⁺	[M+H-b] ⁺	[M+H-b-h] ⁺	[M+H-CH ₃ OH] ⁺	[M+H-c-h] ⁺	[M+H-b-h-CO] ⁺	[M+H-b-h-HCOOH] ⁺	[M+H-b-h-a] ⁺	[M+H-c-h-a] ⁺	[M+H-c-h-a-f] ⁺	[M+H-c-h-a-f-CO] ⁺	[M+H-a-i] ⁺	[g+H] ⁺	[g+H-CHClO]
	<i>m/z</i> →	340.09	325.07	310.05	308.07	296.03	282.05	264.04	252.04	238.03	223.00	195.01	209.02	180.02	116.05
	15	100.0	0.30	0.21	0.31	-	-	0.20	-	0.52	-	-	-	-	-
	30	100.0	37.4	6.0	12.5	3.4	6.9	17.8	3.6	76.5	1.00	-	-	-	-
	45	1.2	2.7	2.3	1.9	4.3	3.9	39.8	17.8	100.0	45.2	5.4	5.0	1.9	-
	75	-	-	-	-	-	-	-	-	1.6	40.5	100.0	10.1	26.7	21.7
11 flavoklorin G	sz→	[M+H] ⁺					[M+H-a] ⁺		[M+H-a-b] ⁺	[M+H-a-c] ⁺		[M+H-a-d] ⁺	[g+H] ⁺	[g+H-CHClO]	
	<i>m/z</i> →	352.13					252.08		237.06	223.04		209.02	180.02	116.05	
	15	100.0					5.1		-	-		-	-	-	
	30	29.5					100.0		19.4	3.4		2.3	0.50	-	
	45	-					20.0		100.0	12.2		7.8	13.3	-	
	75	-					-		1.8	1.0		2.7	100.0	5.8	

^a Az „a”-„i” betűkkel jelölt fragmentumok a 12. ábrán látható fragmentumoknak felelnek meg.

^b A legnagyobb intenzitású (100%) ionhoz viszonyítva.

^c Az ionintenzitások meghatározására az F.6.A, A', B, B', F, F' ábrákon látható HR-MS/MS spektrumok szolgáltak.
CID (collision induced dissociation energy): ütközési energia (15, 30, 45, 75 eV).

F.8. táblázat. A *Flavomyces fulophazii* izolátumok tenyészeinek HPLC-MS módszerrel meghatározott összetétele. Berek-Nagy és mtsai (2021) S4. táblázat módosítva.

<i>F. fulophazii</i> tenyészetek ^a		<i>F. fulophazii</i> tenyészetekben azonosított vegyületek											
		tetrámsav típusú vegyületek					azafilon típusú vegyületek						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		dihidroxi- vermelhotin	hidroxi- vermelhotin	oxo- vermelhotin	metoxi- vermelhotin	vermelhotin	flavoklorin E	flavoklorin F	flavoklorin A	flavoklorin B	flavoklorin C	flavoklorin G	flavoklorin D
		vegyületek mennyisége a tenyészetekben (mg/g) ^b											
HF-1	A	0,025	0,24	0,028	0,029	0,88	0,094	0,019	3,09	0,060	0,17	0,053	0,26
	B	BLD	BLQ	BLD	BLD	0,00056	0,0060	0,018	0,16	0,0041	0,0065	0,0012	0,042
	C	BLD	BLQ	BLD	BLD	BLD	0,011	0,019	0,30	0,0081	0,0091	0,0014	0,064
HF-2	A	0,052	0,66	0,097	0,088	2,83	0,023	0,025	0,70	0,017	0,032	0,010	0,17
	B	0,027	0,62	0,073	0,070	2,98	0,011	0,030	0,50	0,0089	0,013	0,0023	0,088
	C	0,0091	0,64	0,038	0,065	2,92	0,0045	0,020	0,13	0,0030	0,0019	0,0090	0,025
HF-3	A	0,24	1,40	0,74	0,28	6,56	0,070	0,057	2,23	0,043	0,068	0,105	0,37
	B	0,0043	0,28	0,019	0,058	1,45	0,0048	0,033	0,17	0,0046	0,0029	0,011	0,090
	C	0,26	1,58	0,89	0,31	7,83	0,063	0,064	2,05	0,047	0,073	0,092	0,34
HF-4	A	0,010	0,31	0,020	0,033	1,33	0,026	0,041	0,88	0,062	0,011	0,013	0,45
	B	0,0029	0,45	0,0074	0,057	2,12	0,011	0,045	0,22	0,0072	0,0053	0,0052	0,049
	C	0,011	0,39	0,019	0,048	1,75	0,026	0,055	0,85	0,046	0,016	0,013	0,41
HF-5	A	0,011	0,35	0,033	0,050	2,088	0,0064	0,042	0,42	0,021	0,0083	0,0015	0,35
	B	0,0086	0,25	0,028	0,039	1,94	0,012	0,047	0,86	0,038	0,022	0,0018	0,59
	C	0,016	0,35	0,052	0,069	2,70	0,012	0,043	0,73	0,038	0,019	0,0028	0,51
HF-6	A	BLD	0,00020	BLD	BLD	0,0020	0,013	0,051	0,42	0,018	0,022	0,0033	0,71
	B	BLD	BLD	BLD	BLD	0,00097	0,0089	0,051	0,17	0,010	0,015	0,0015	0,29
	C	BLD	BLD	BLD	BLD	0,0010	0,022	0,047	0,80	0,032	0,042	0,0050	1,10
HF-7	A	0,020	0,35	0,031	0,043	1,34	0,035	0,037	0,98	0,042	0,12	0,048	0,15
	B	0,010	0,14	0,033	0,018	0,89	0,010	0,066	0,32	0,015	0,046	0,0031	0,20
	C	0,020	0,15	0,040	0,015	0,64	0,025	0,063	0,67	0,027	0,059	0,0058	0,27
HF-8	A	BLD	0,00025	BLD	BLD	0,00095	0,0061	0,021	0,37	0,010	0,020	0,0011	0,14
	B	0,0018	0,038	0,0015	0,015	0,27	0,043	0,022	1,70	0,064	0,24	0,0017	0,36
	C	BLD	BLD	BLD	BLD	0,00045	0,0032	0,017	0,21	0,0042	0,012	0,00082	0,039
HF-9	A	BLD	BLD	BLD	BLD	0,00060	0,019	0,032	0,98	0,020	0,014	0,0039	0,47
	B	BLD	BLD	BLD	BLD	0,00046	0,070	0,027	2,21	0,059	0,064	0,038	0,64
	C	BLD	BLD	BLD	BLD	0,00024	0,0024	0,011	0,078	0,0090	0,0010	0,0010	0,11

HF-10	A	BLD	0,00027	BLD	BLD	0,0011	0,0056	0,015	0,15	0,0080	0,0057	0,0013	0,093
	B	BLD	BLQ	BLD	BLD	0,00054	0,0028	0,013	0,066	0,0016	0,0045	0,00061	0,015
	C	BLD	BLD	BLD	BLD	0,00030	0,036	0,037	1,048	0,027	0,040	0,0072	0,33
MF-1	A	BLD	0,0018	0,00039	0,0011	0,020	0,041	0,083	0,98	0,041	0,025	0,0053	0,46
	B	BLD	0,00085	0,00027	0,00048	0,011	0,033	0,081	0,80	0,035	0,021	0,0034	0,46
	C	BLD	BLQ	BLD	BLQ	0,0020	0,017	0,065	0,30	0,020	0,0081	0,0011	0,23
MF-2	A	0,00036	0,0098	0,00082	0,0024	0,053	0,020	0,075	0,55	0,018	0,0055	0,0013	0,27
	B	0,011	0,25	0,035	0,16	2,10	0,079	0,10	1,61	0,082	0,026	0,032	0,60
	C	0,00098	0,045	0,0031	0,017	0,30	0,0095	0,031	0,14	0,0088	0,0023	0,0015	0,089
MF-3	A	0,0021	0,20	0,0057	0,048	0,69	0,019	0,030	0,19	0,010	0,0032	0,0038	0,062
	B	0,053	0,73	0,12	0,15	2,42	0,14	0,064	4,20	0,19	0,11	0,084	0,76
	C	0,0044	0,21	0,013	0,043	0,82	0,019	0,046	0,29	0,016	0,0057	0,0026	0,16
MF-4	A	0,0010	0,039	0,0019	0,0087	0,17	0,017	0,046	0,33	0,018	0,0084	0,0016	0,23
	B	BLD	0,0027	BLD	0,00058	0,0085	0,0092	0,015	0,055	0,0046	0,0020	0,0012	0,016
	C	0,00028	0,012	0,00064	0,0030	0,057	0,013	0,047	0,22	0,012	0,0064	0,0014	0,12
MF-5	A	0,0030	0,13	0,0067	0,021	0,46	0,023	0,076	0,62	0,022	0,0068	0,0028	0,26
	B	0,0080	0,19	0,021	0,032	0,82	0,060	0,089	1,49	0,041	0,019	0,0085	0,38
	C	0,0054	0,15	0,012	0,025	0,54	0,032	0,085	0,72	0,033	0,010	0,0055	0,38
MF-6	A	BLD	0,0011	BLD	0,00032	0,0038	0,015	0,020	0,083	0,0071	0,0014	0,0017	0,020
	B	0,0033	0,083	0,0074	0,014	0,33	0,066	0,079	1,59	0,066	0,049	0,012	0,60
	C	BLQ	0,0079	0,00034	0,0026	0,045	0,010	0,038	0,13	0,0085	0,0030	0,0011	0,077
MF-7	A	0,048	1,42	0,22	0,16	7,12	0,017	0,0093	0,74	0,045	0,080	0,017	0,42
	B	0,0028	0,74	0,019	0,13	4,19	0,0019	0,0047	0,048	0,0025	0,0038	0,0012	0,060
	C	0,0038	0,91	0,021	0,15	5,24	0,0032	0,0067	0,085	0,0036	0,0060	0,0016	0,11

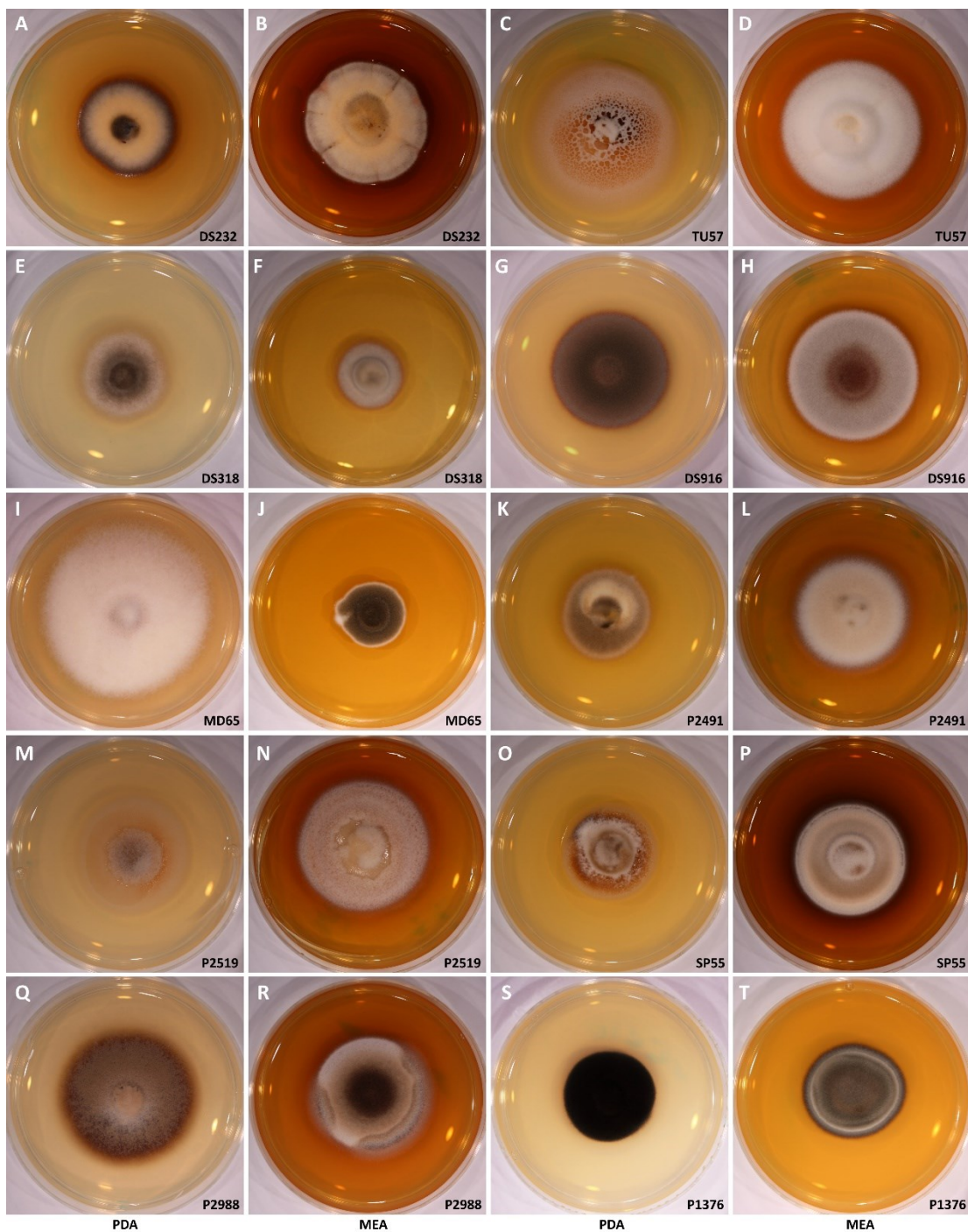
^a *F. fulophazii* magyarországi (HF-1–HF-10) és mongóliai (MF-1–MF-7) izolátumainak három párhuzamos tenyésztete (A–C).

^b Vegyületek mennyisége a teljes, micéliumból és táptalajból álló, liofilizált tenyészetekben.

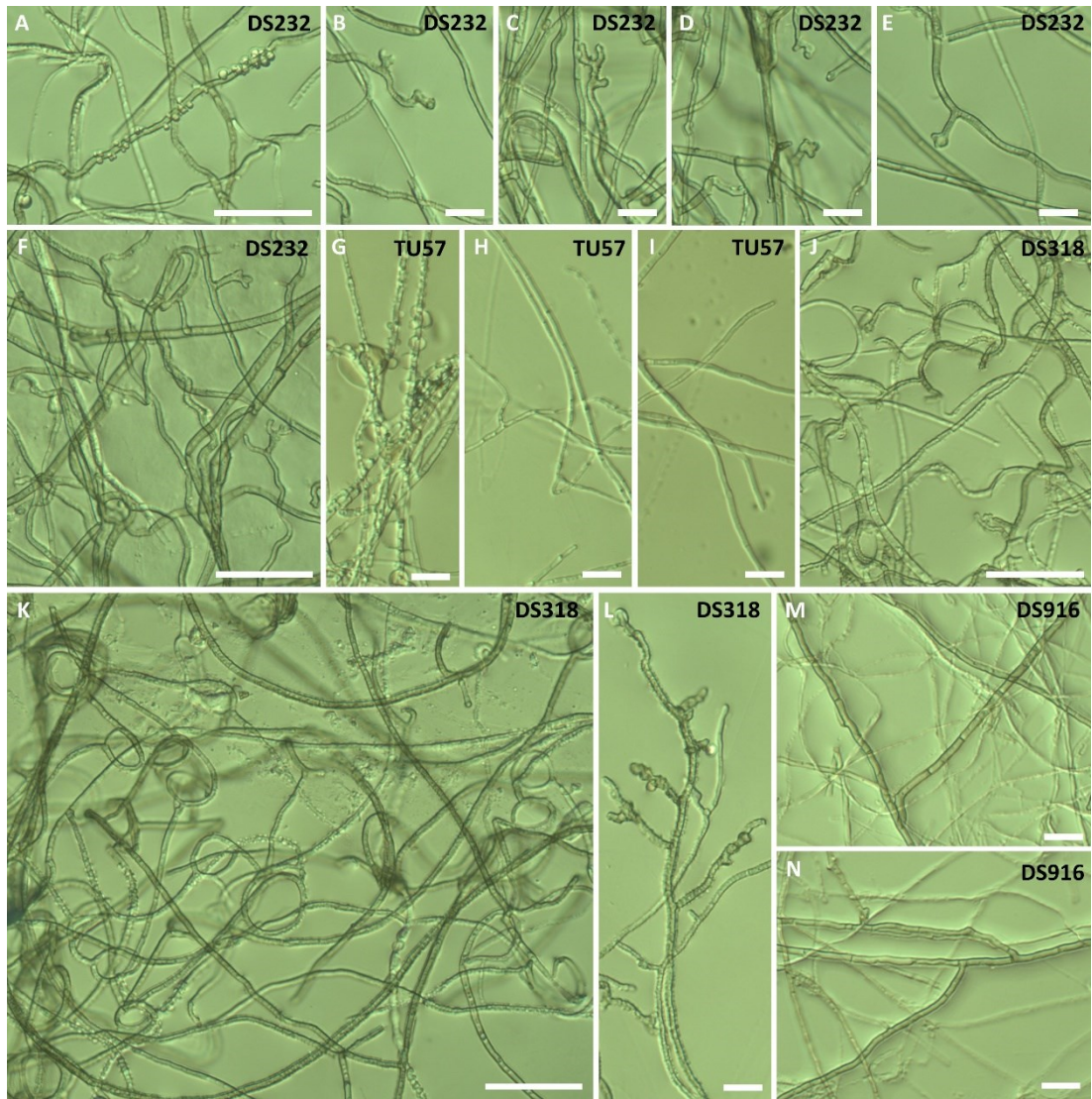
A vegyületek izolálására az azokat viszonylag nagy mennyiségben (háttérszínnel jelölve) tartalmazó tenyészeteket használtuk fel.

BLD (below limit of detection): kimutatási határ alatt (vermelhotin: 0,000067 mg/g, hidrox-vermelhotin: 0,000072 mg/g).

BLQ (below limit of quantitation): mennyiségi meghatározhatóság határa alatt (vermelhotin: 0,00022 mg/g, hidrox-vermelhotin: 0,00024 mg/g).



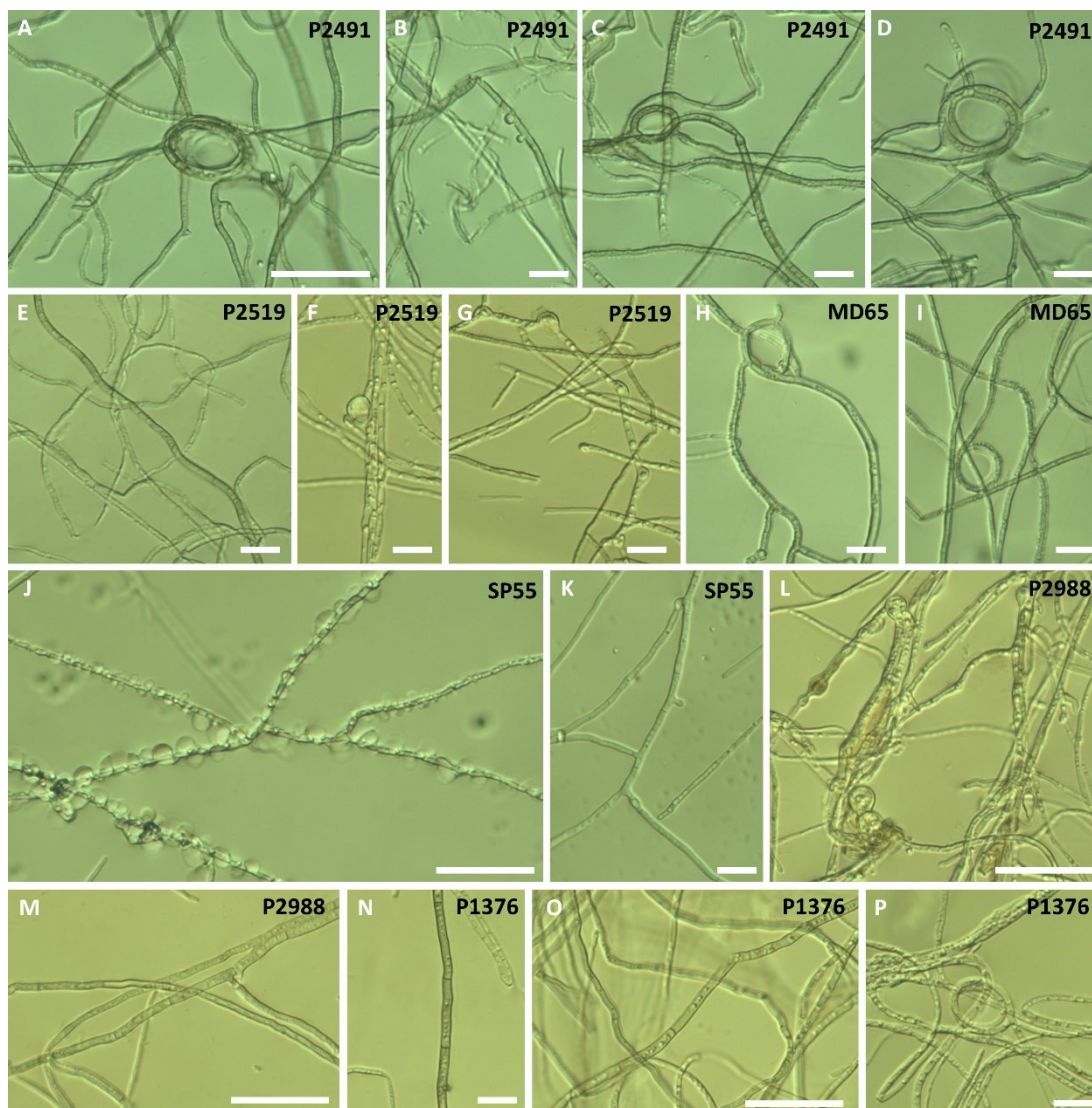
F.1. ábra. A jelen munkáink keretében azonosított hat, a tudományra új *Darksidea* faj tíz reprezentatív izolátumának PDA (potato dextrose agar) és MEA (malt extract agar) táptalajon, három hétig, szobahőmérsékleten és sötétben nevelt tenyészetei. **A–D:** *D. eta* nom. prov., **E–H:** *D. theta* nom. prov., **I–L:** *D. iota* nom. prov., **M–P:** *D. kappa* nom. prov., **Q–R:** *D. lambda* nom. prov., **S–T:** *D. omega* nom. prov.
Fotók: Knapp G. Dániel.



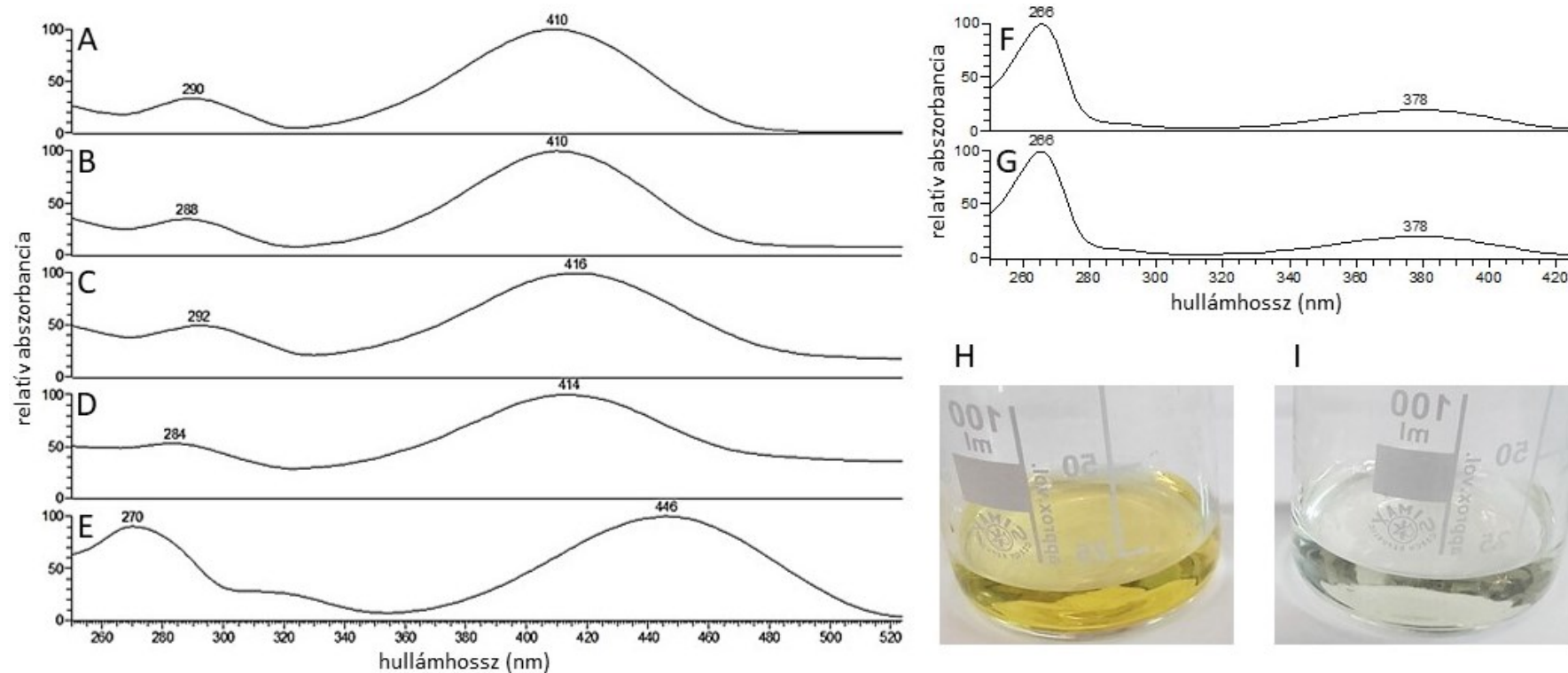
F.2. ábra. A jelen munkáink keretében azonosított, a tudományra új *Darksidea eta* nom. prov. és *D. theta* nom. prov. izolátumainak mikromorfológiája PDA (potato dextrose agar) táptalajon. **A–F:** *D. eta* nom. prov. DS232 izolátumának áttetsző (hialin) és pigmentált, rendszerint durva felszínű hifái váladékcseppekkel (**A**) és hármás elágazásokkal („trichotomic branches”) (**B–F**). **G–I:** *D. eta* nom. prov. TU57 izolátumának áttetsző hifái váladékcseppekkel (**G**). **J–L:** *D. theta* nom. prov. DS318 izolátumának általában pigmentált és durva felszínű, göndörödő hifái gyakran előforduló hifahurkokkal („hyphal loops”) (**J, K**). **M, N:** *D. theta* nom. prov. DS916 izolátumának pigmentált hifái.

Mércék: **A, F, J, K:** 50 µm, egyébként 20 µm.

Fotók: Knapp G. Dániel.

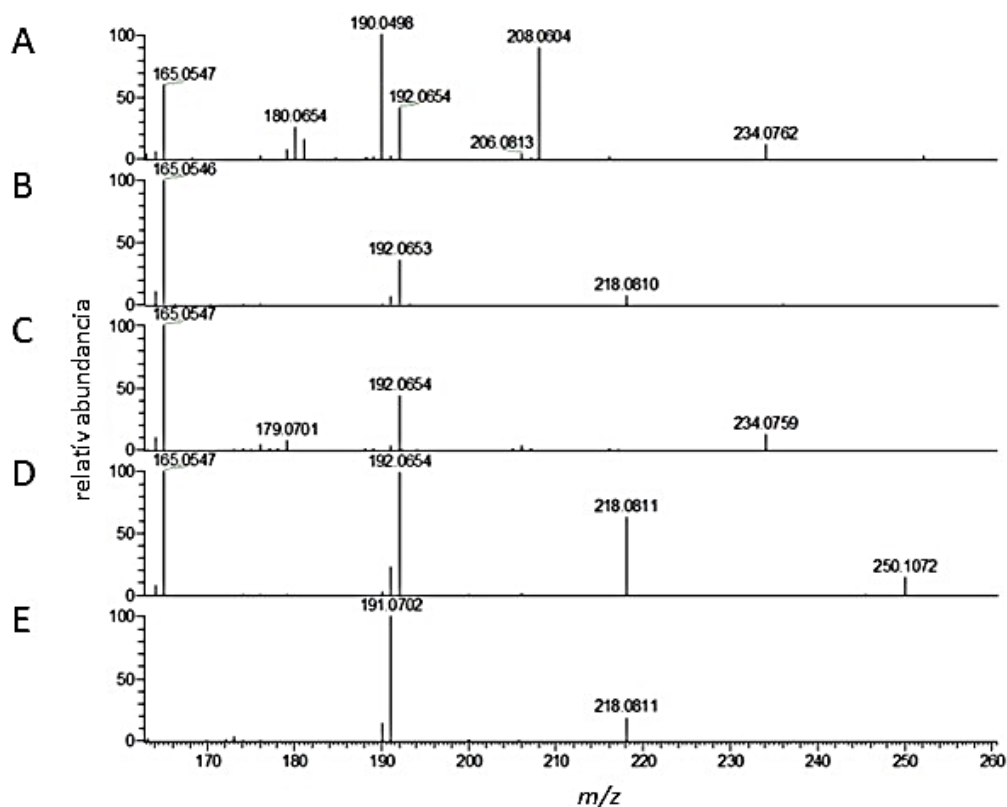


F.3. ábra. A jelen munkáink keretében azonosított, a tudományra új *Darksidea iota* nom. prov., *D. kappa* nom. prov., *D. lambda* nom. prov. és *D. omega* nom. prov. izolátumainak mikromorfológiája PDA (potato dextrose agar) táptalajon. **A–D:** *D. iota* nom. prov. P2491 izolátumának pigmentált, rendszerint durva felszínű, göndörödő hifái hifahurkokkal („hyphal loops”) (**A, C, D**) és váladékcseppekkel (**B**). **E–G:** *D. kappa* nom. prov. P2519 izolátumának áttetsző (hialin) és pigmentált hifái szeptumokkal (**E**) és éretlen klamidospórákkal (**F, G**). **H, I:** *D. iota* nom. prov. MD65 izolátumának pigmentált, durva felszínű hifái hifahurkokkal. **J, K:** *D. kappa* nom. prov. SP55 izolátumának áttetsző hifái váladékcseppekkel (**J**) és elágazásokkal (**K**). **L, M:** *D. lambda* nom. prov. P2988 izolátum áttetsző, szeptált hifái éretlen klamidospórákkal (**L**). **N–P:** *D. omega* nom. prov. P1376 izolátum áttetsző és pigmentált hifái hifahurkokkal (**P**).
Mércék: **A, J, L, M, O:** 50 µm, egyébként 20 µm.
Fotók: Knapp G. Dániel.

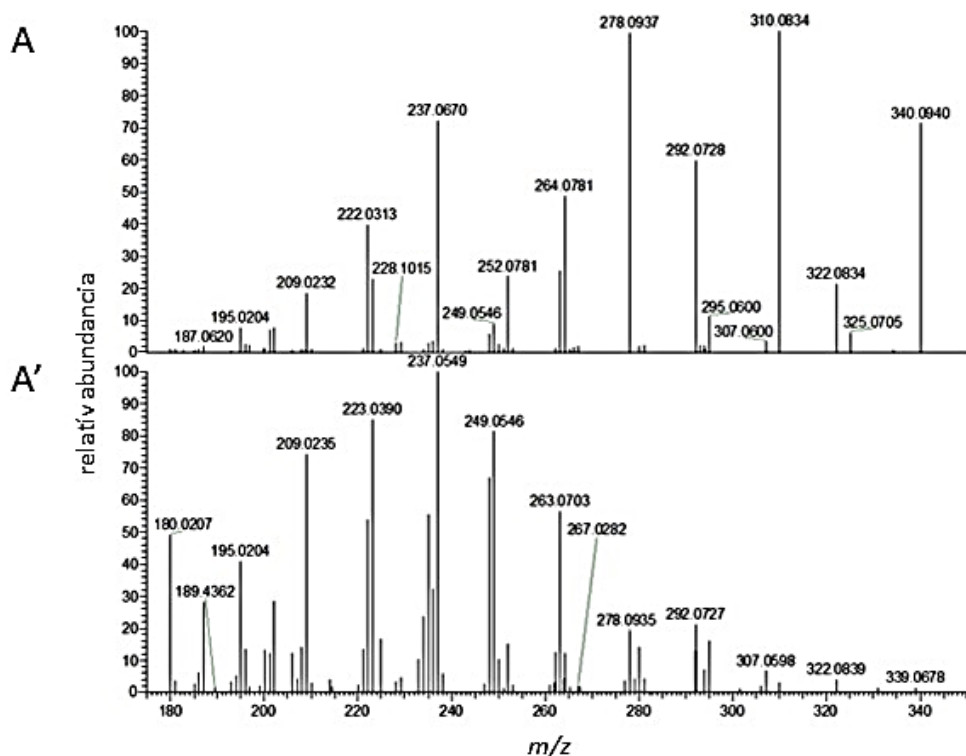


F.4. ábra. *Flavomyces fulophazii* tenyészetekben azonosított, tetrámsav típusú dihidroxi-vermelhotin (1) (A), hidroxi-vermelhotin (2) (B), oxo-vermelhotin (3) (C), metoxi-vermelhotin (4) (D) és vermelhotin (5) (E), továbbá az azafilon típusú flavoklorin A (8) (F) és flavoklorin G (11) (G) vegyületek UV spektrumai, valamint a vermelhotin (H) és flavoklorin A (I) vegyületeket tartalmazó frakciók fotói.

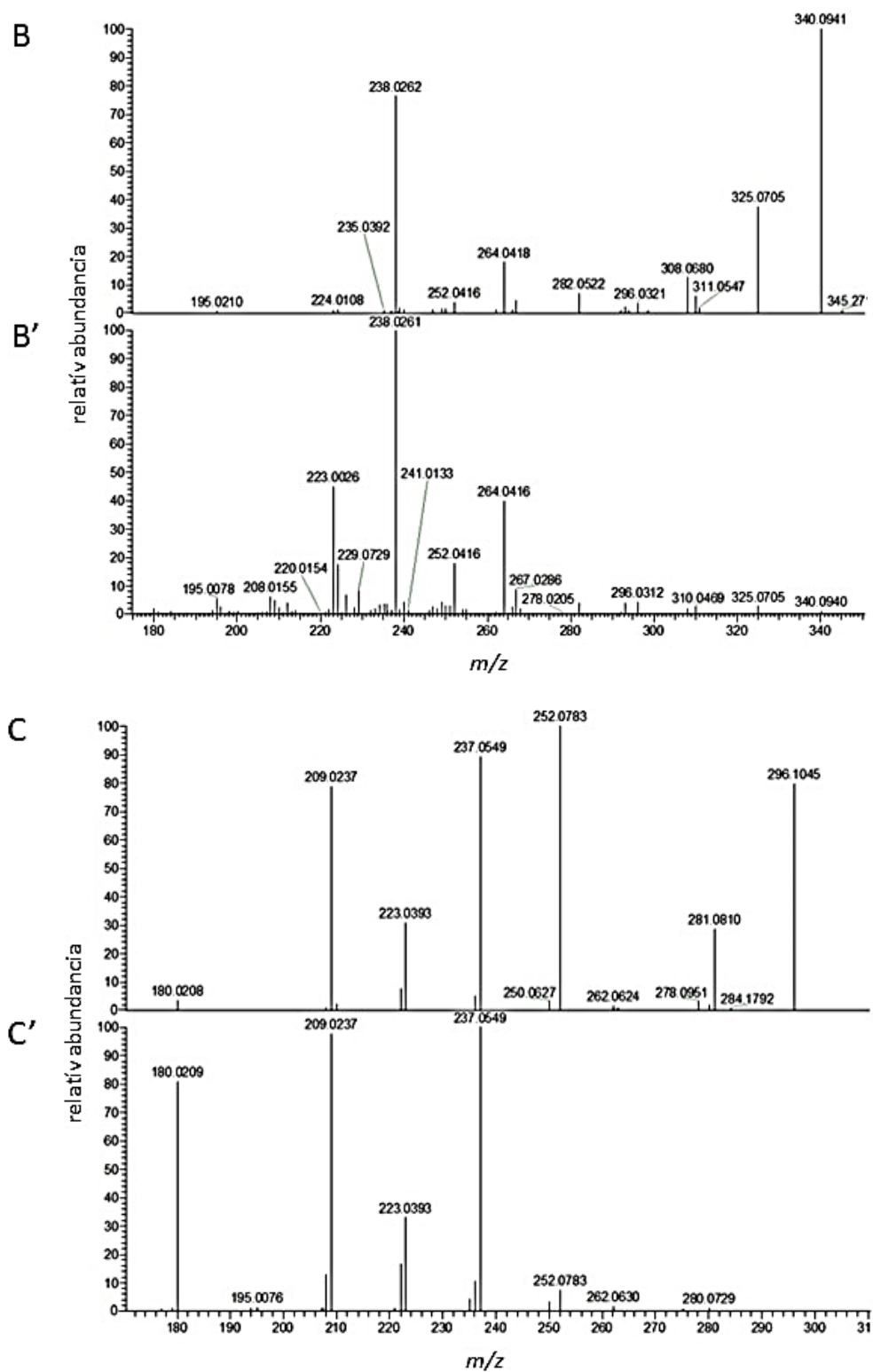
Fotó: Berek-Nagy Péter János. Berek-Nagy és mtsai (2021) S1. ábra módosítva.



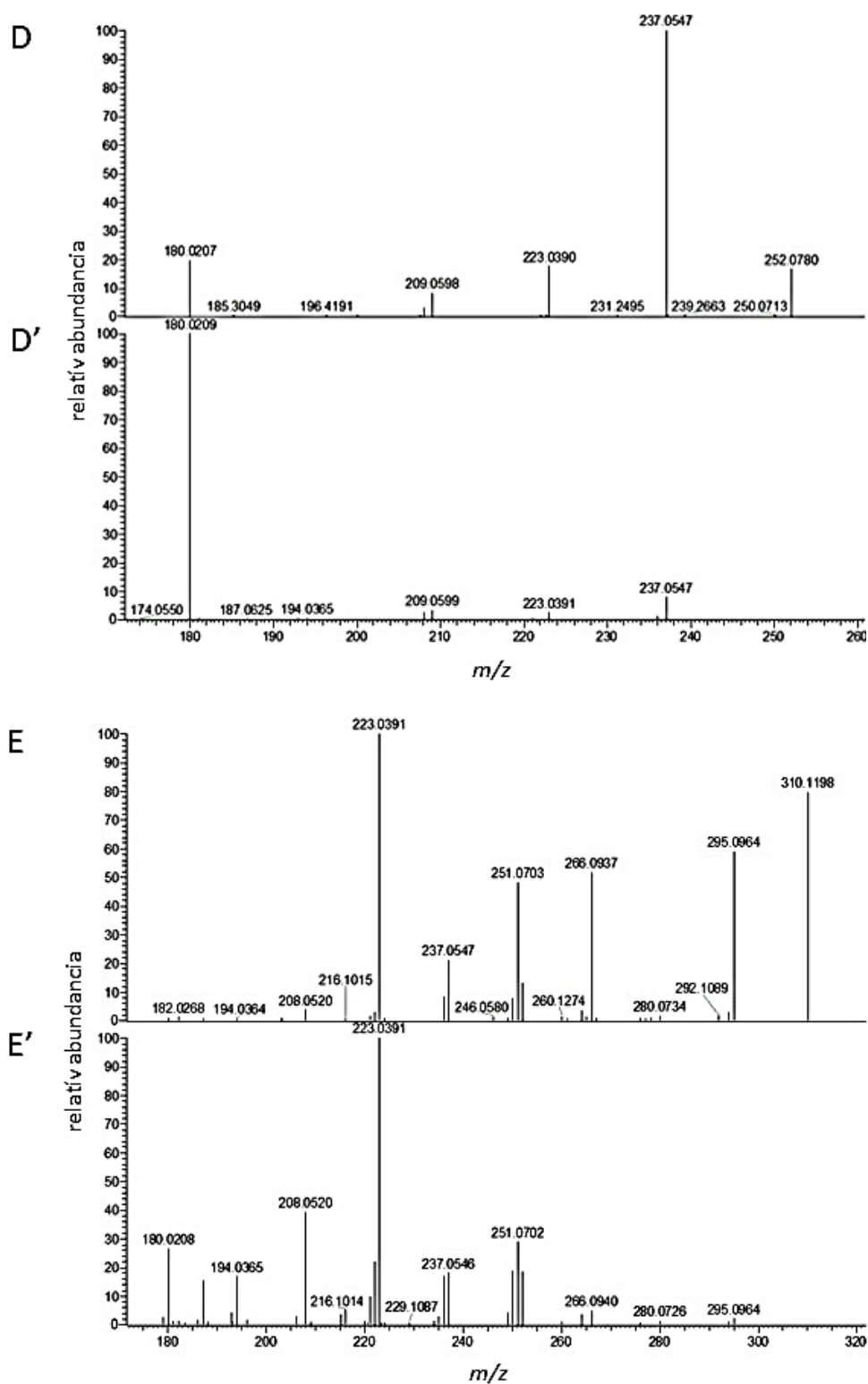
F.5. ábra. *Flavomyces fulophazii* tenyészetekben azonosított, tetrámsav típusú dihidroxi-vermelhotin (1) (A), hidroxi-vermelhotin (2) (B), oxo-vermelhotin (3) (C), metoxi-vermelhotin (4) (D) és vermelhotin (5) (E) protonált molekuláinak HR-MS/MS spektrumai. Ütközési energia: 20 eV. A fragmentum ionok relatív intenzitásait az F.5. táblázat tartalmazza. Berek-Nagy és mtsai (2021) S3. ábra módosítva.



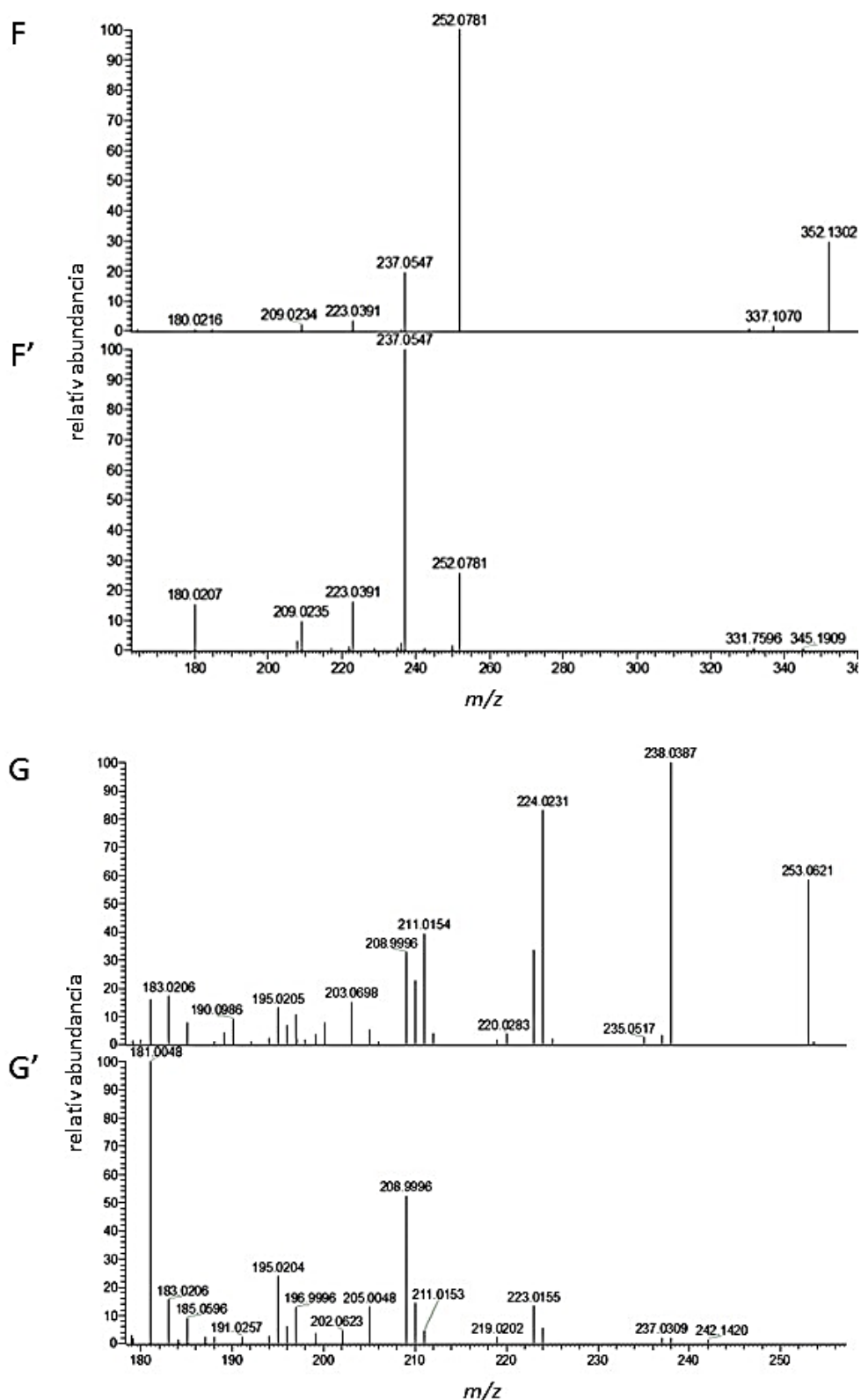
F.6. ábra. *Flavomyces fulophazii* tenyészetekben azonosított, azafilon típusú vegyületek HR-MS/MS spektrumai. Folytatás a következő oldalon.



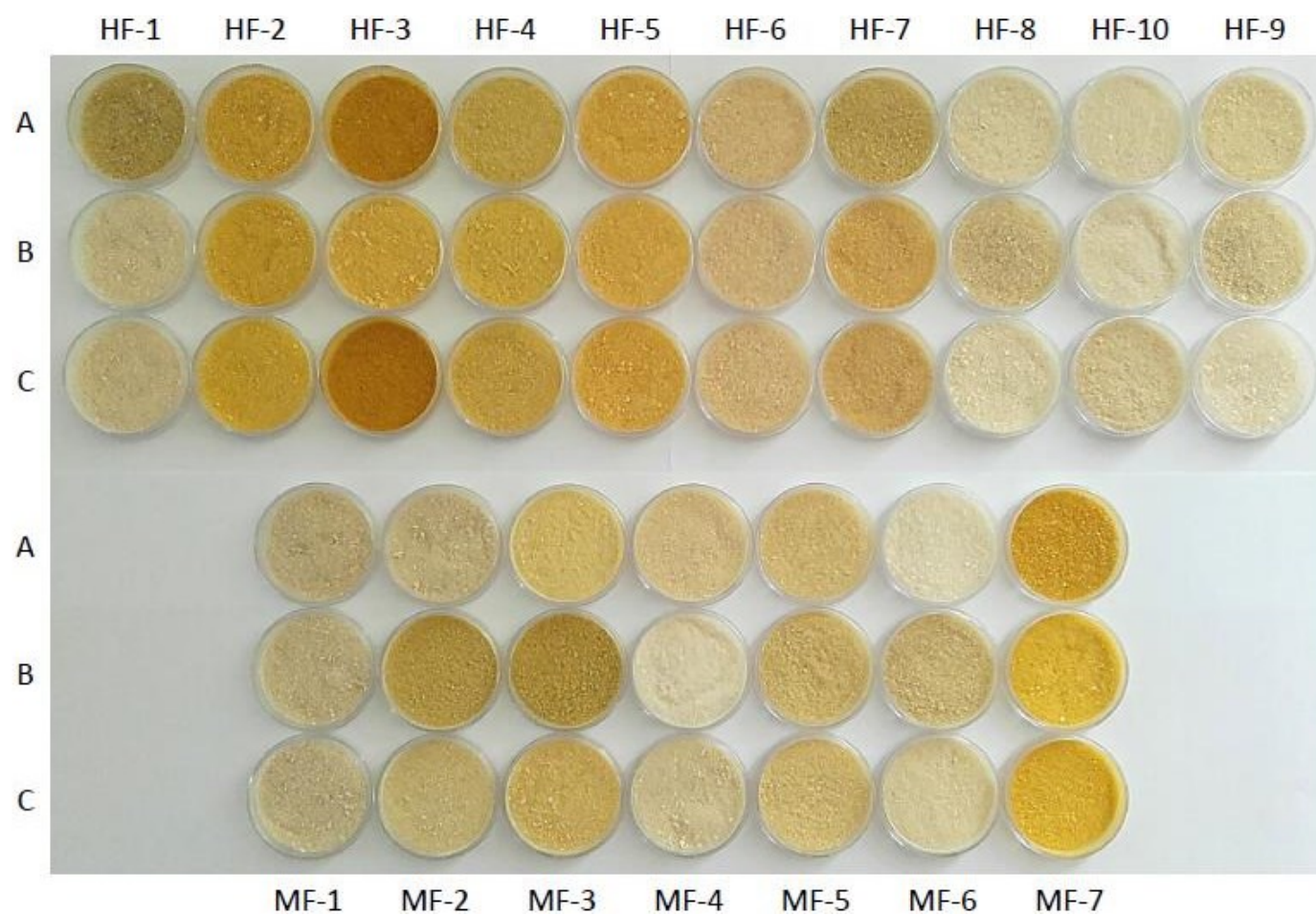
F.6. ábra folytatása. *Flavomyces fulophazii* tenyészetekben azonosított, azafilon típusú vegyületek HR-MS/MS spektrumai. Folytatás a következő oldalon.



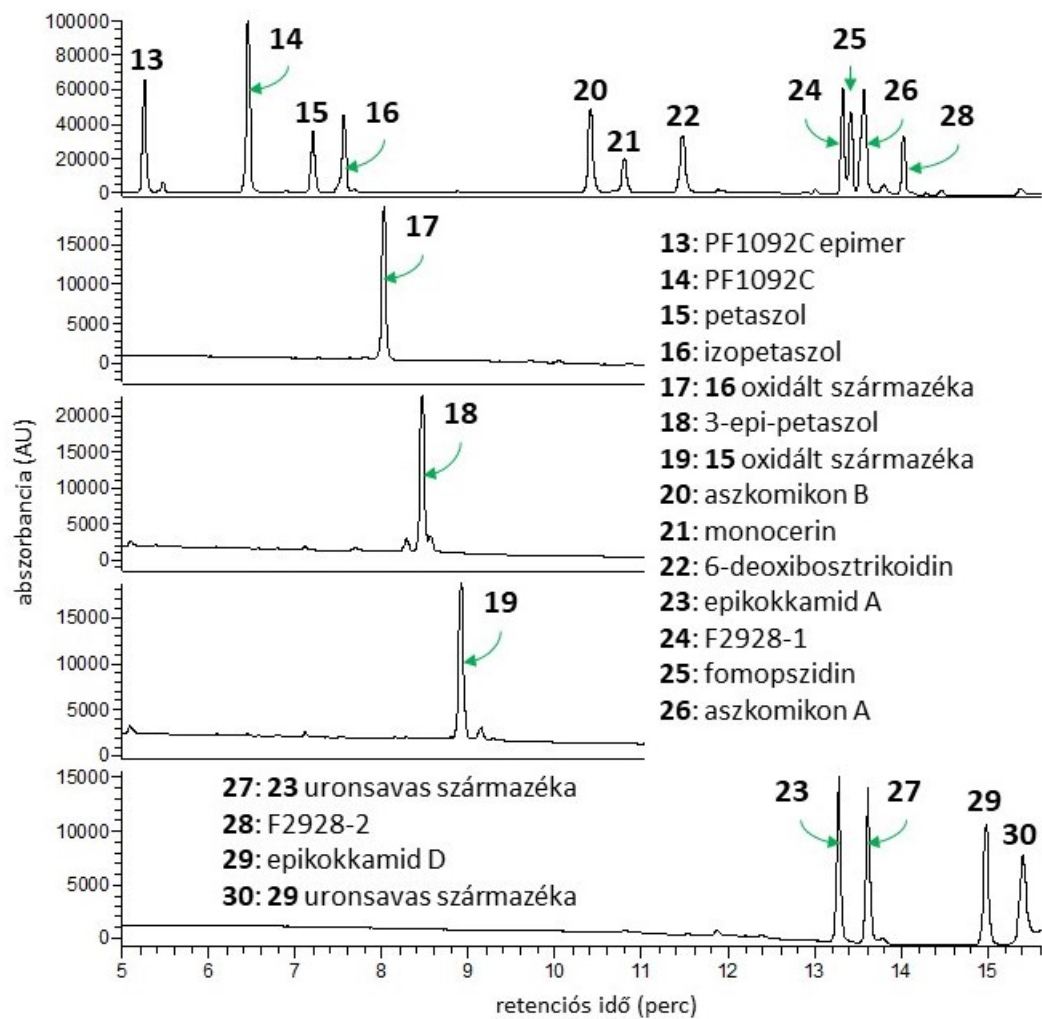
F.6. ábra folytatása. *Flavomyces fulophazii* tenyészetekben azonosított, azafilon típusú vegyületek HR-MS/MS spektrumai. Folytatás a következő oldalon.



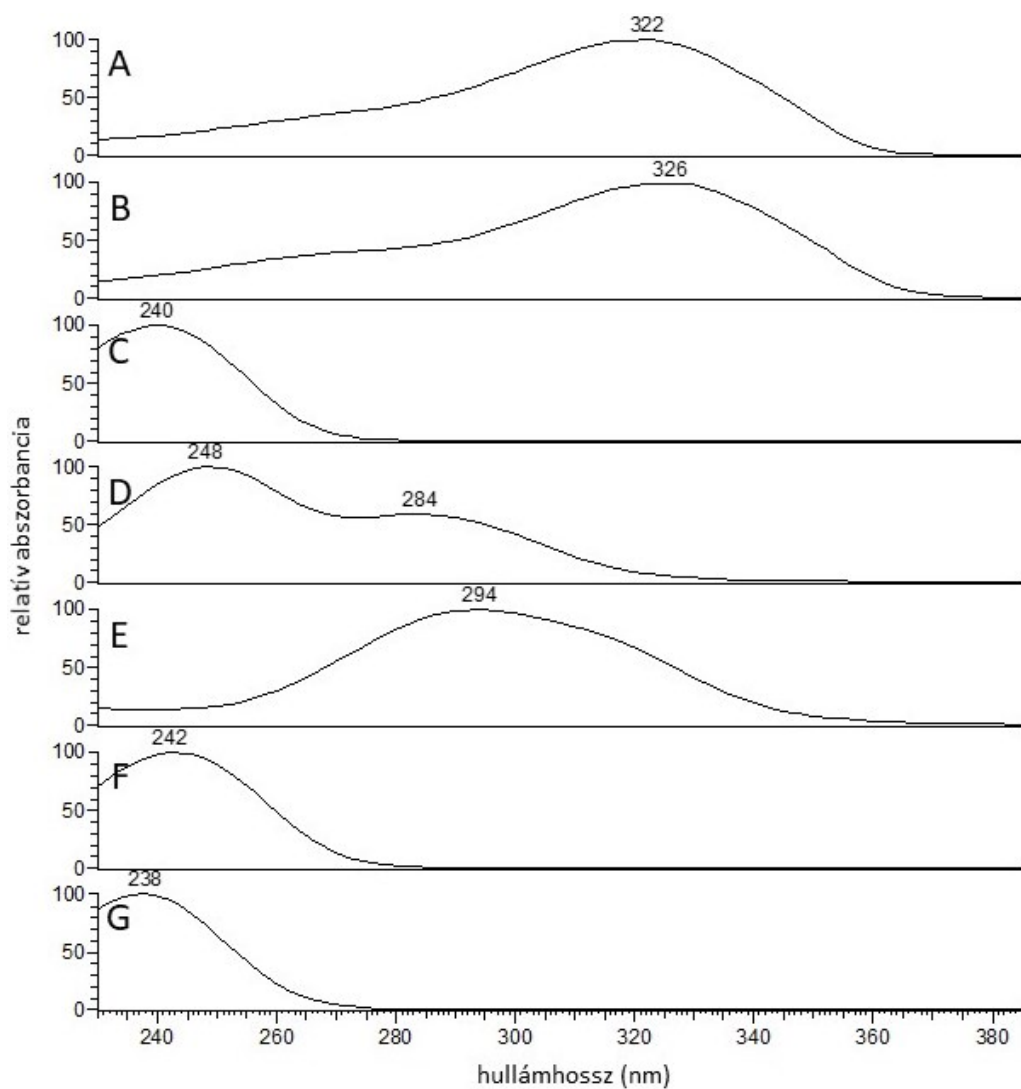
F.6. ábra folytatása. *Flavomyces fulophazii* tenyészetekben azonosított, azafilon típusú flavoklorin E (6) (A, A'), flavoklorin F (7) (B, B'), flavoklorin A (8) (C, C'), flavoklorin B (9) (D, D'), flavoklorin C (10) (E, E'), flavoklorin G (11) (F, F') és flavoklorin D (12) (G, G') protonált molekuláinak HR-MS/MS spektrumai. Ütközési energiák: 30 eV (A–G), 45 eV (A'–G'). A fragmentum ionok relatív intenzitásait az F.6. és F.7. táblázatok tartalmazzák. Berek-Nagy és mtsai (2021) S6. ábra módosítva.



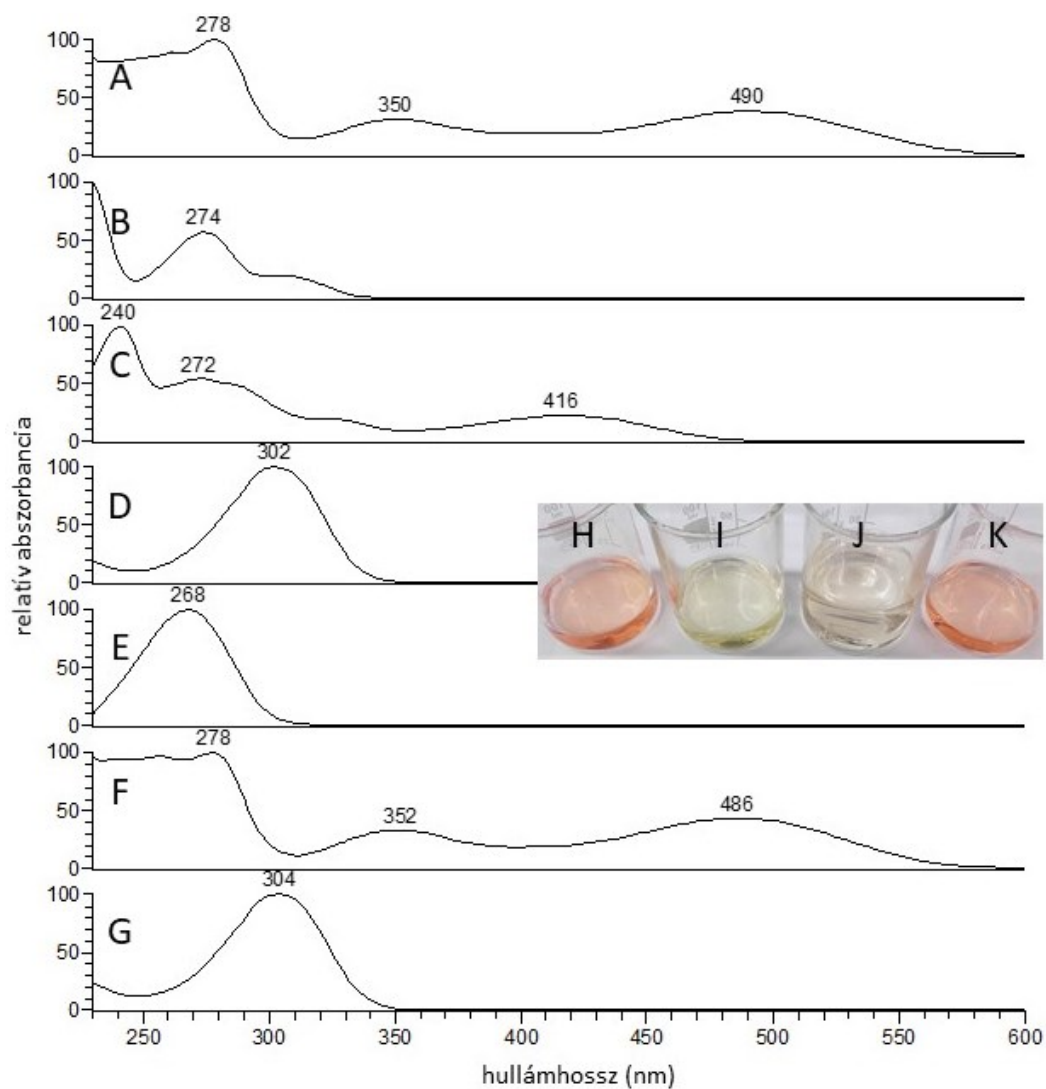
F.7. ábra. A tíz magyarországi (HF-1–HF-10) és hét mongóliai (MF-1–MF-7) *Flavomyces fulophazii* izolátum liofilizált és porított tenyészetei (párhuzamosok: A–C). Berek-Nagy és mtsai (2021) S8. ábra.



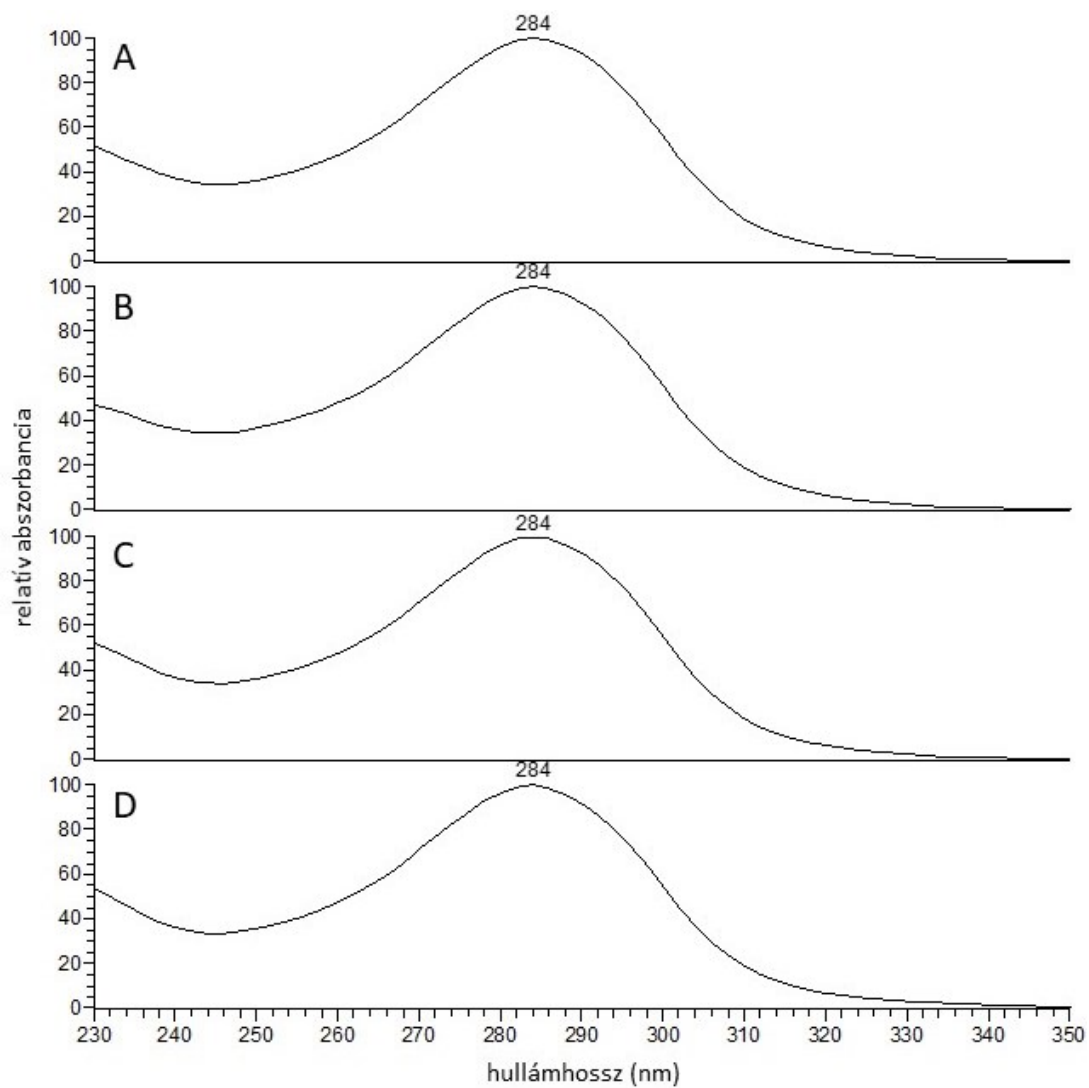
F.8. ábra. A *Darksidea* nemzetség tenyészeiből izolált vegyületek (13-30) nagyhatékonyságú folyadék-kromatográfiás elválasztását bemutató HPLC-UV kromatogramok ($\lambda=230-600$ nm). A vegyületek oldatainak koncentrációja 0,1 mg/mL (17: 0,05 mg/mL), injektált térfogata 2 μ L.



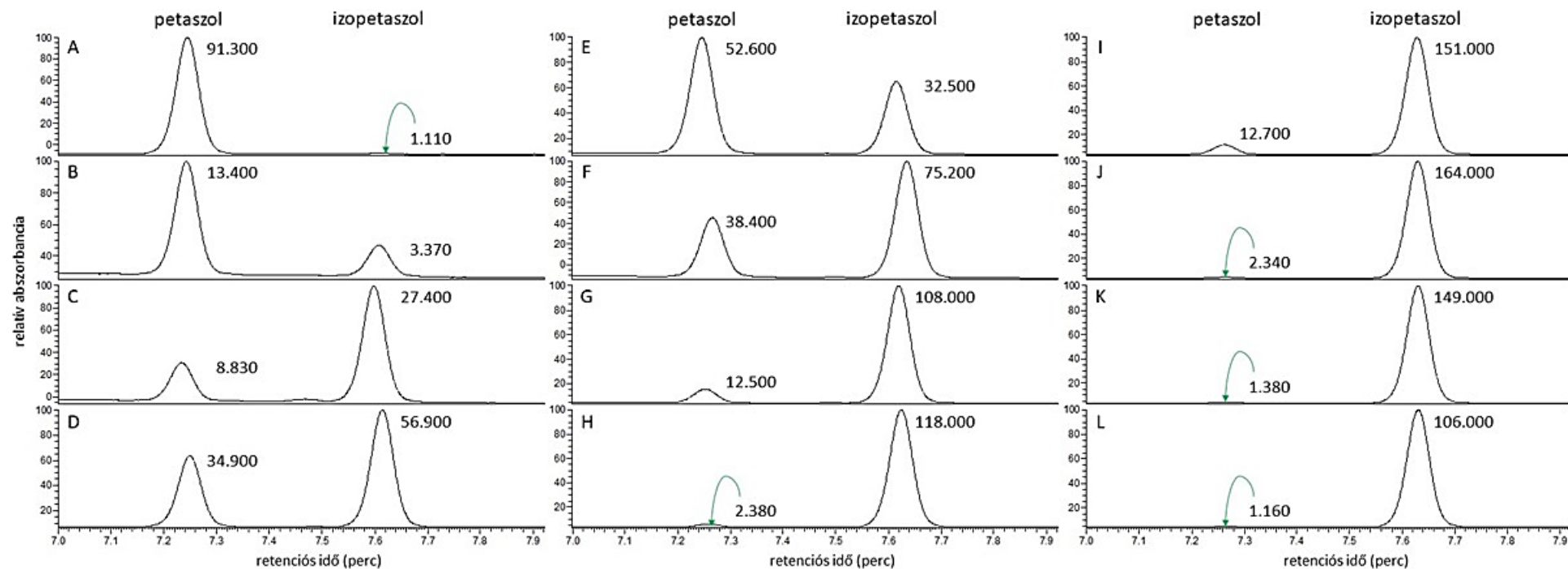
F.9. ábra. A *Darksidea* nemzetség tenyészeiben azonosított, terpén típusú PF1092C epimer (**13**) (**A**), PF1092C (**14**) (**B**), petaszol (**15**) (**C**), izopetaszol (**16**) (**D**), oxidált izopetaszol (**17**) (**E**), 3-epi-petaszol (**18**) (**F**) és oxidált petaszol (**19**) (**G**) UV spektrumai.



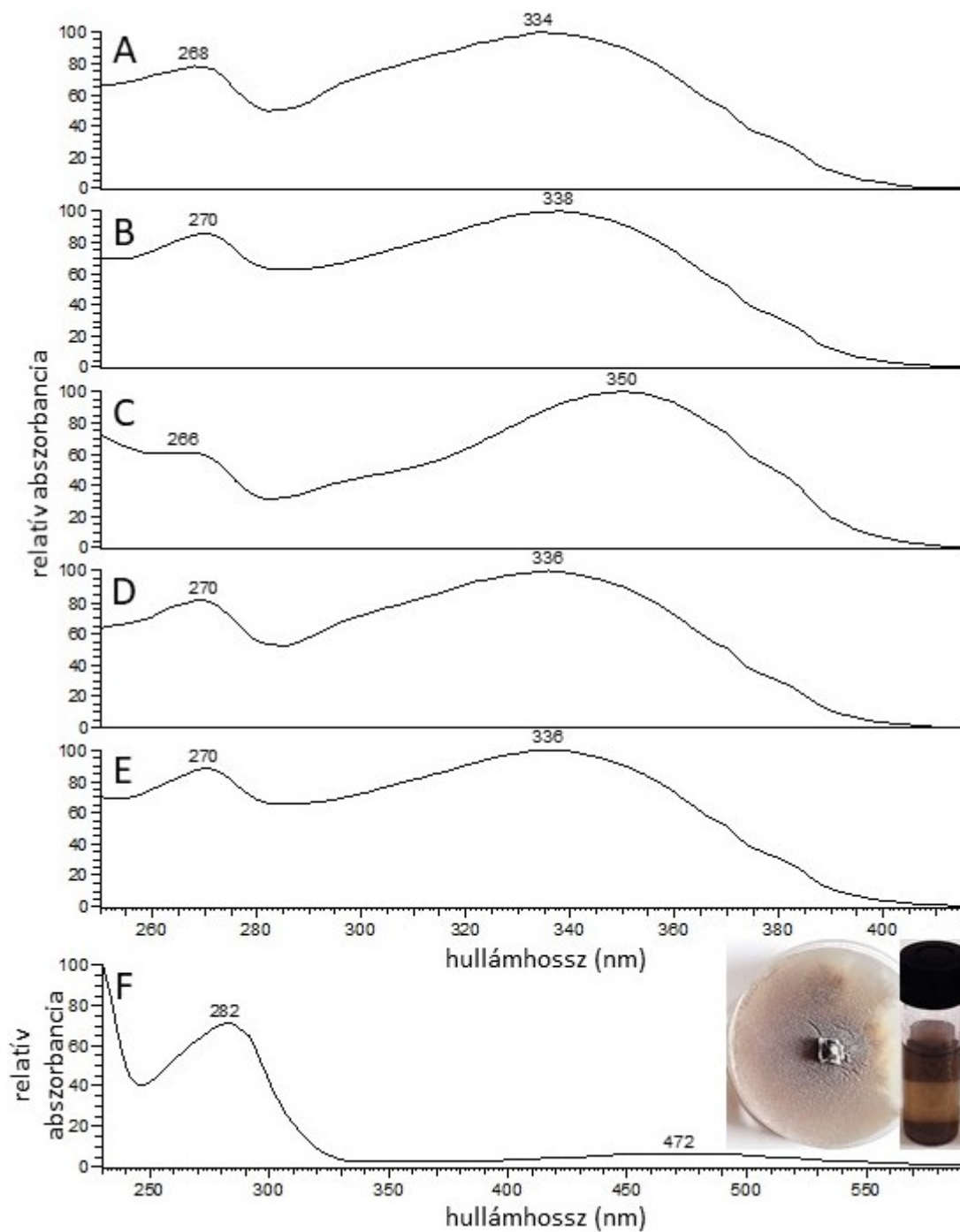
F.10. ábra. A *Darksidea* nemzetség tenyészeiben azonosított, poliketid típusú aszkomikon B (**20**) (**A**), monocerin (**21**) (**B**), 6-deoxibosztrikoidin (**22**) (**C**), F2928-1 (**24**) (**D**), fomopszidin (**25**) (**E**), aszkomikon A (**26**) (**F**) és F2928-2 (**28**) (**G**) UV spektrumai, továbbá az aszkomikon B (**H**), 6-deoxibosztrikoidin (**I**), fomopszidin (**J**) és aszkomikon A (**K**) vegyületeket tartalmazó frakciók fotója.
Fotó: Berek-Nagy Péter János.



F.11. ábra. *Darksidea beta* tenyészetében azonosított epikokkamid A (**23**) (A) és uronsavas származékának (**27**) (B), illetve az epikokkamid D (**29**) (C) és uronsavas származékának (**30**) (D) UV spektrumai.

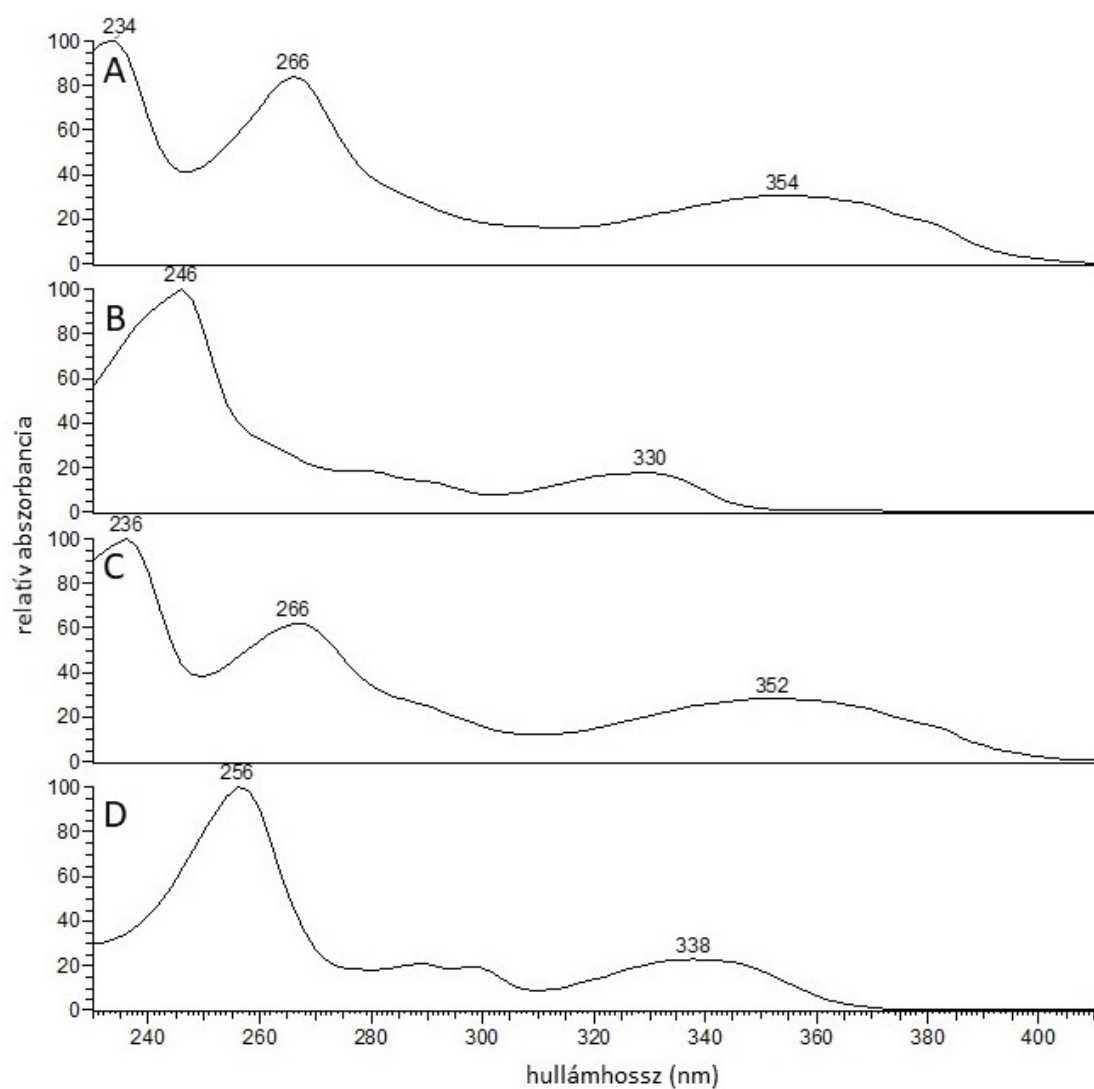


F.12. ábra. A petaszol vegyület izopetaszol vegyületté alakításának hatékonyságát – az intakt petaszol (A) vízzel (B), 0,2 M ammónium-hidroxid oldattal (C), 0,2 M trifluorecetsav (TFE) oldattal (D) 15 percig, továbbá 0,2 M (E–H) és 2,0 M (I–L) TFE oldattal 7,5, 15, 30 és 60 percig, 100 °C hőmérsékleten történő kezelése esetén – bemutató HPLC-UV kromatogramok ($\lambda=230\text{--}600\text{ nm}$) a petaszol és az izopetaszol UV csúcsterületeivel.

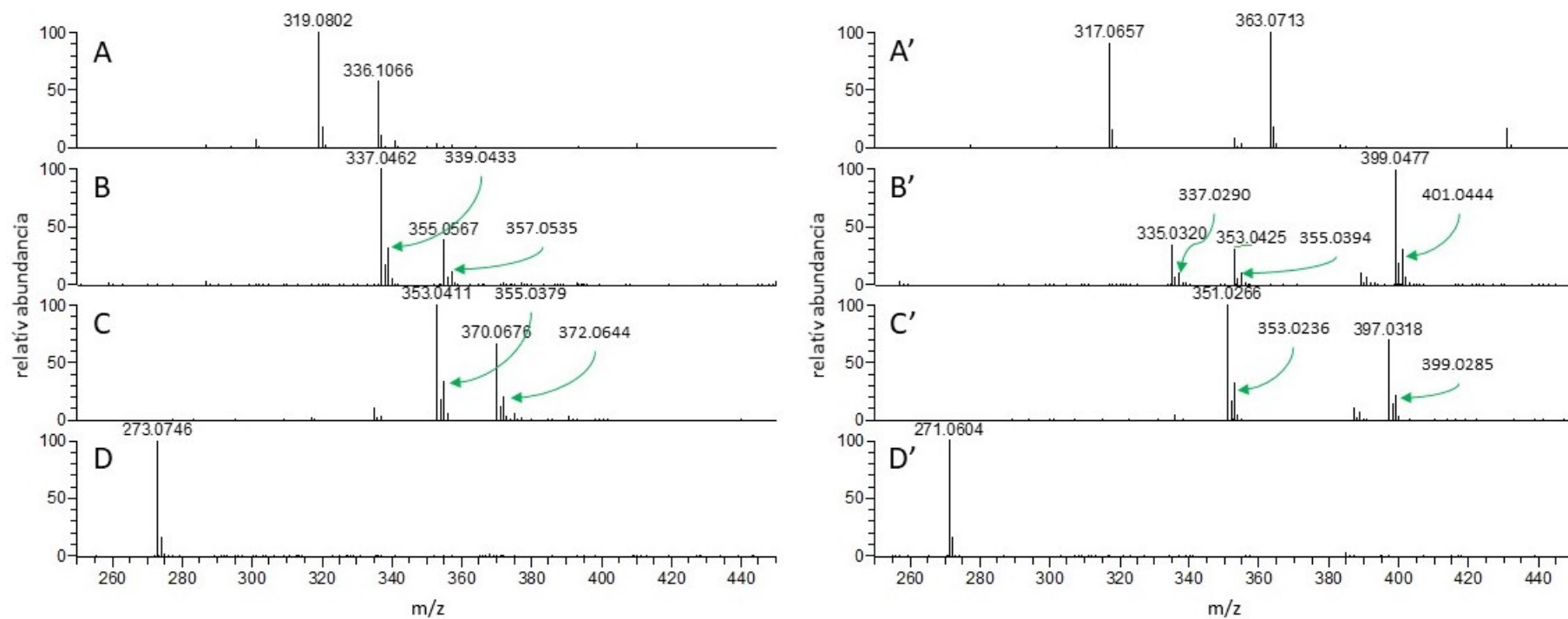


F.13. ábra. Búza- és árpaszalmában azonosított, falvonoid típusú tricin (**33**) (**C**) és flavonolignán származékainak (tricin-4'-O-(β -hidroxifenilgliceril)-éter izomerek ((**31**) (**A**) és (**34**) (**D**)) és tricin-4'-O-(β -guajacilgliceril)-éter izomerek ((**32**) (**B**) és (**35**) (**E**)), továbbá a *Mycothermus thermophilus* izolátumok micéliumában azonosított, a micélium és kivonatának lila színéért (fotók) legalább részben felelős asperterrikinon (**36**) (**F**) UV spektrumai.

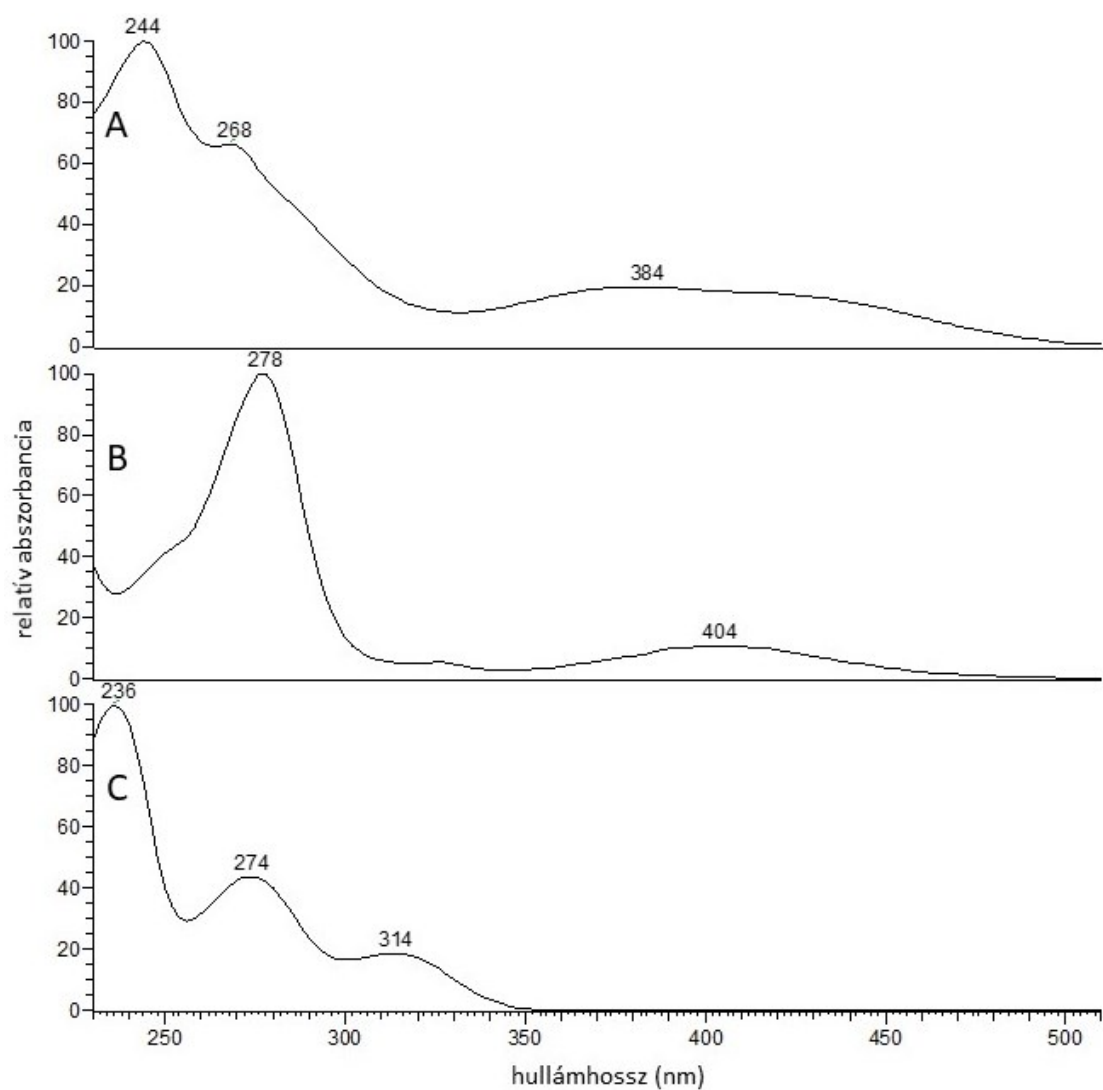
Fotók: Berek-Nagy Péter János.



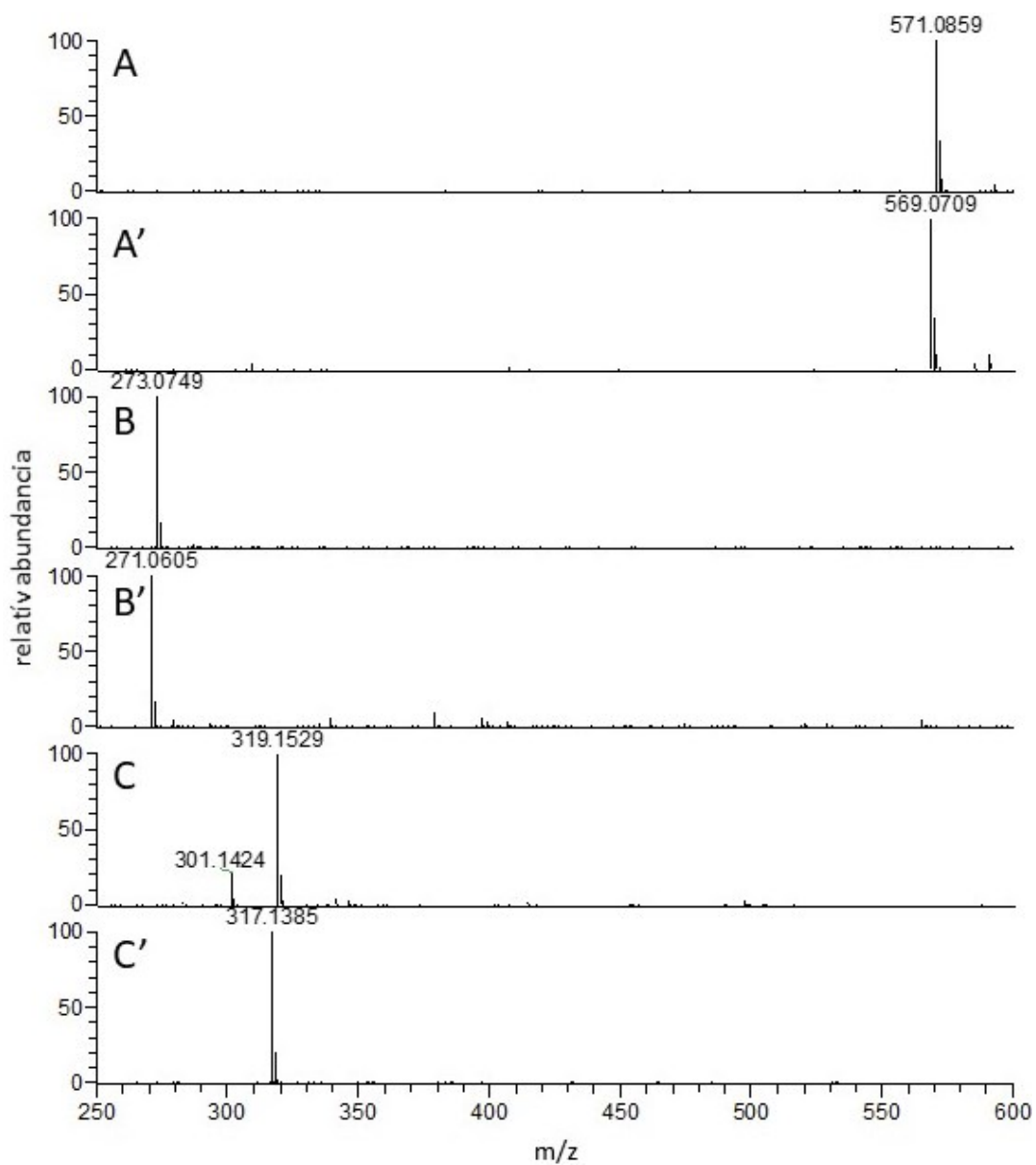
F.14. ábra. Tarackbúzából származó *Acrocalymma vagum* izolátumok tenyészeiben azonosított penicilliumolide B (37) (A), rizopiknin A (38) (B), TMC-264 (39) (C) és alternariol-9-metil-éter (40) (D) UV spektrumai.



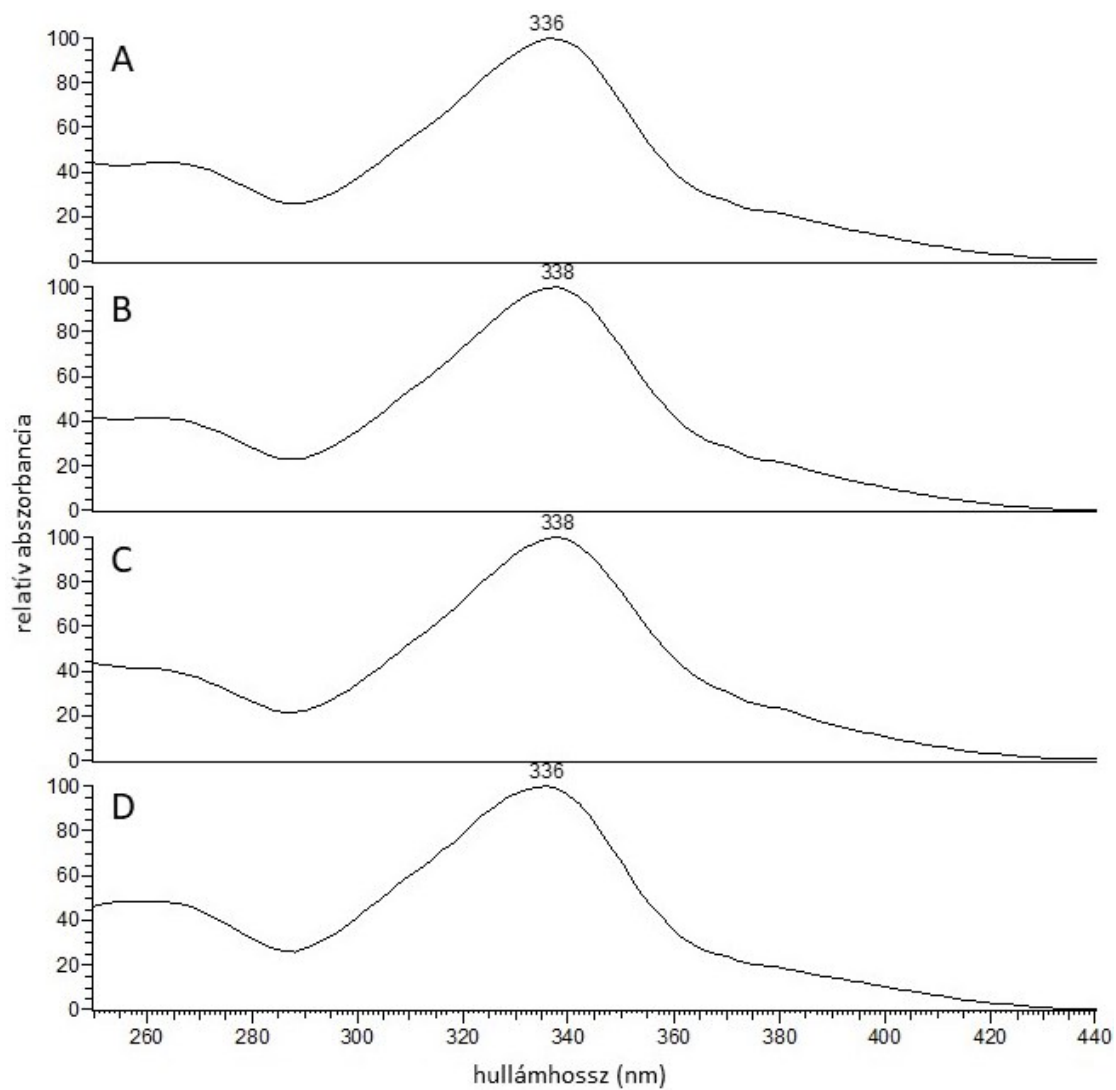
F.15. ábra. Tarackbúzából származó *Acrocallymma vagum* izolátumok tenyészeiben azonosított penicilliumolid B (37) (A, A'), rizopiknin A (38) (B, B'), TMC-264 (39) (C, C') és alternariol-9-metil-éter (40) (D, D') pozitív (A–D) és negatív (A'–D') ionizáció mellett felvett HR-MS spektrumai.



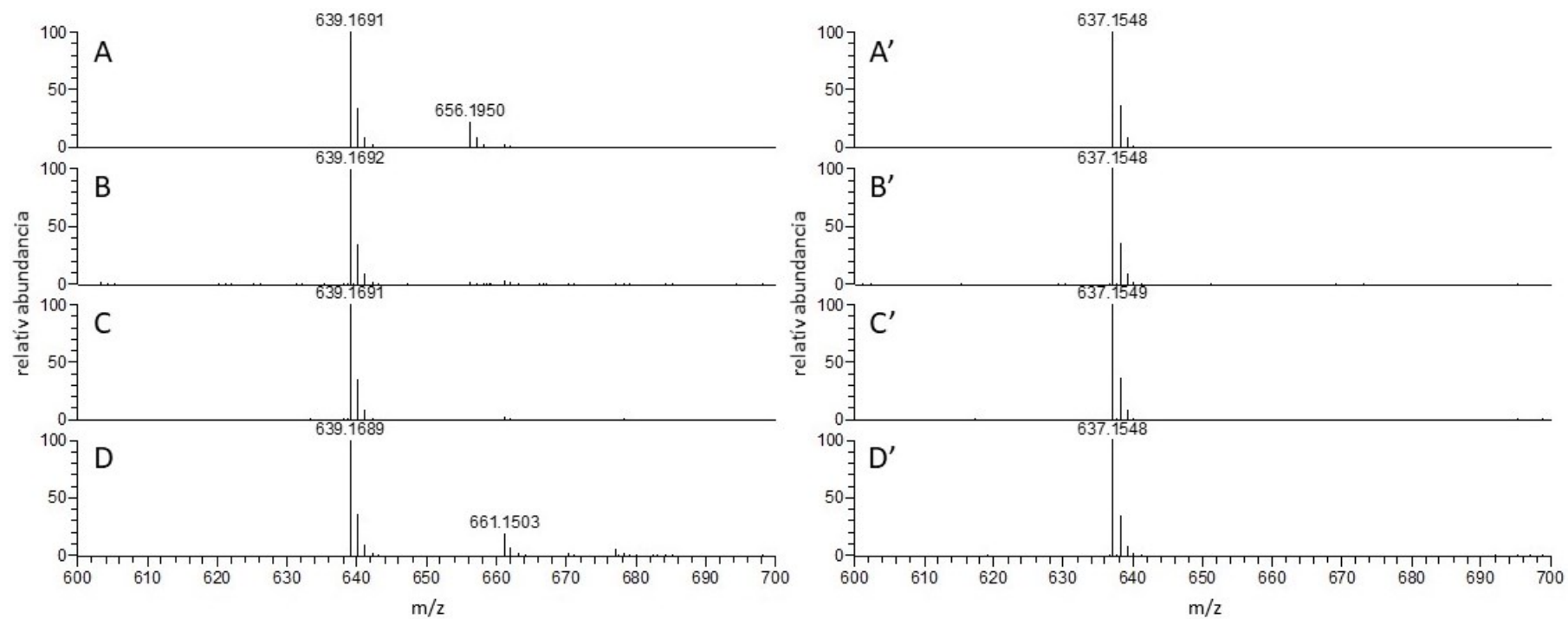
F.16. ábra. Tarackbúzából származó *Fusarium* izolátumok tenyészetében azonosított aurofuzarin (41) (A), rubrofuzarin (42) (B) és zearalenon (43) (C) UV spektrumai.



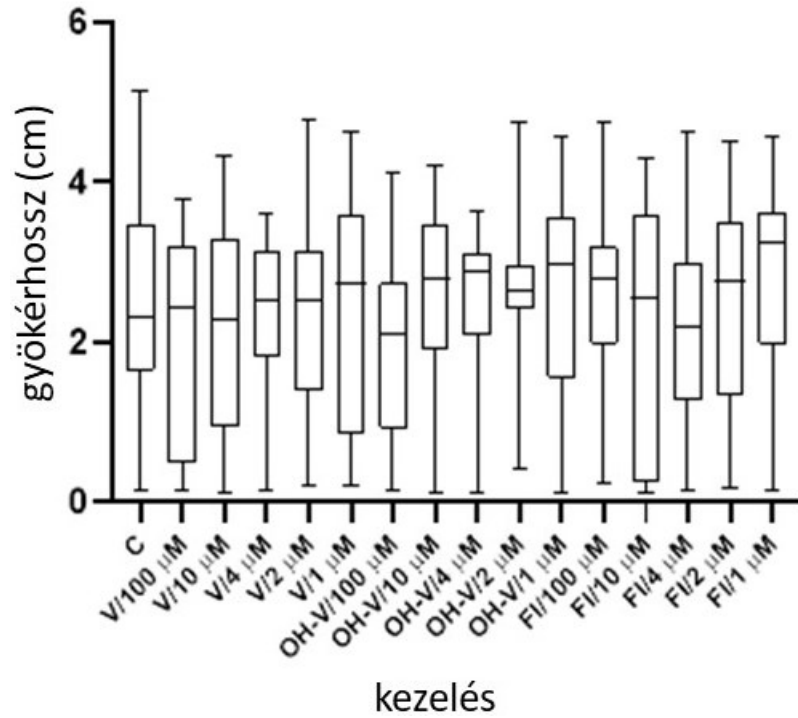
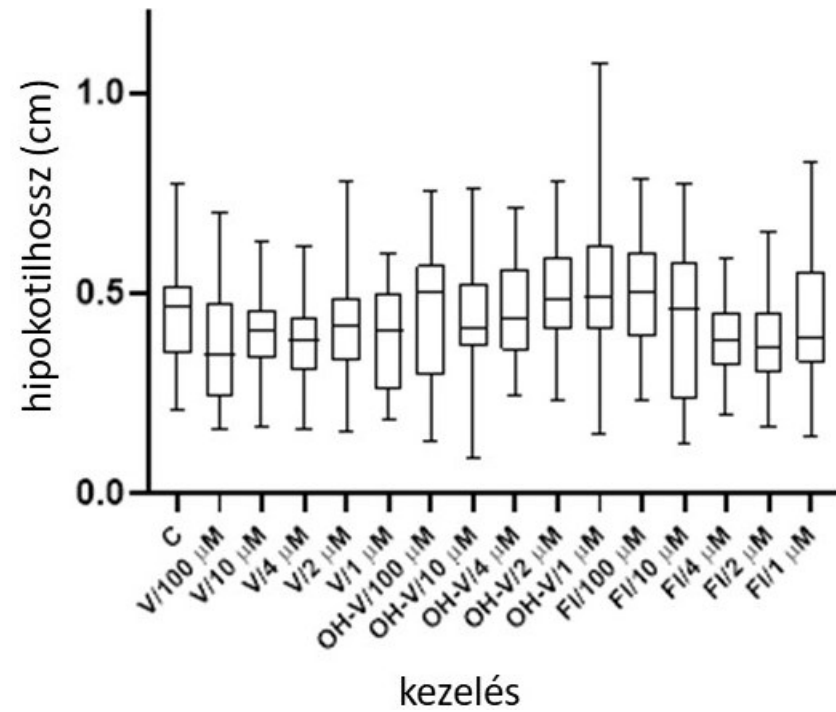
F.17. ábra. Tarackbúzából származó *Fusarium* izolátumok tenyészetében azonosított aurofuzarin (**41**) (A, A'), rubrofuzarin (**42**) (B, B') és zearalenon (**43**) (C, C') pozitív (A–C) és negatív (A'–C') ionizáció mellett felvett HR-MS spektrumai.



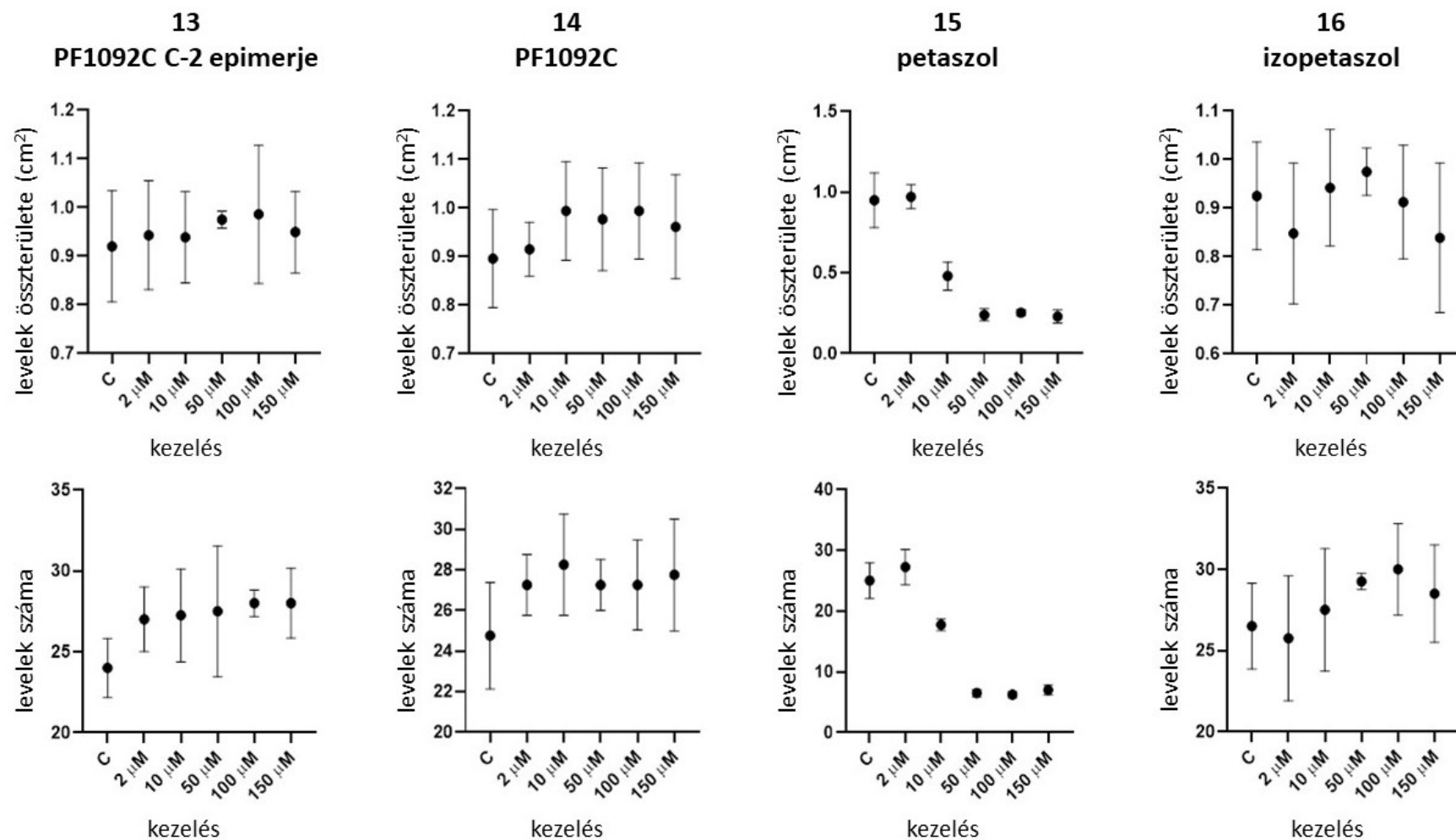
F.18. ábra. Tarackbúzából származó *Setophoma terrestris* izolátumok tenyészeiben azonosított szekalonsav izomerek (44–47) (A–D) UV spektrumai.



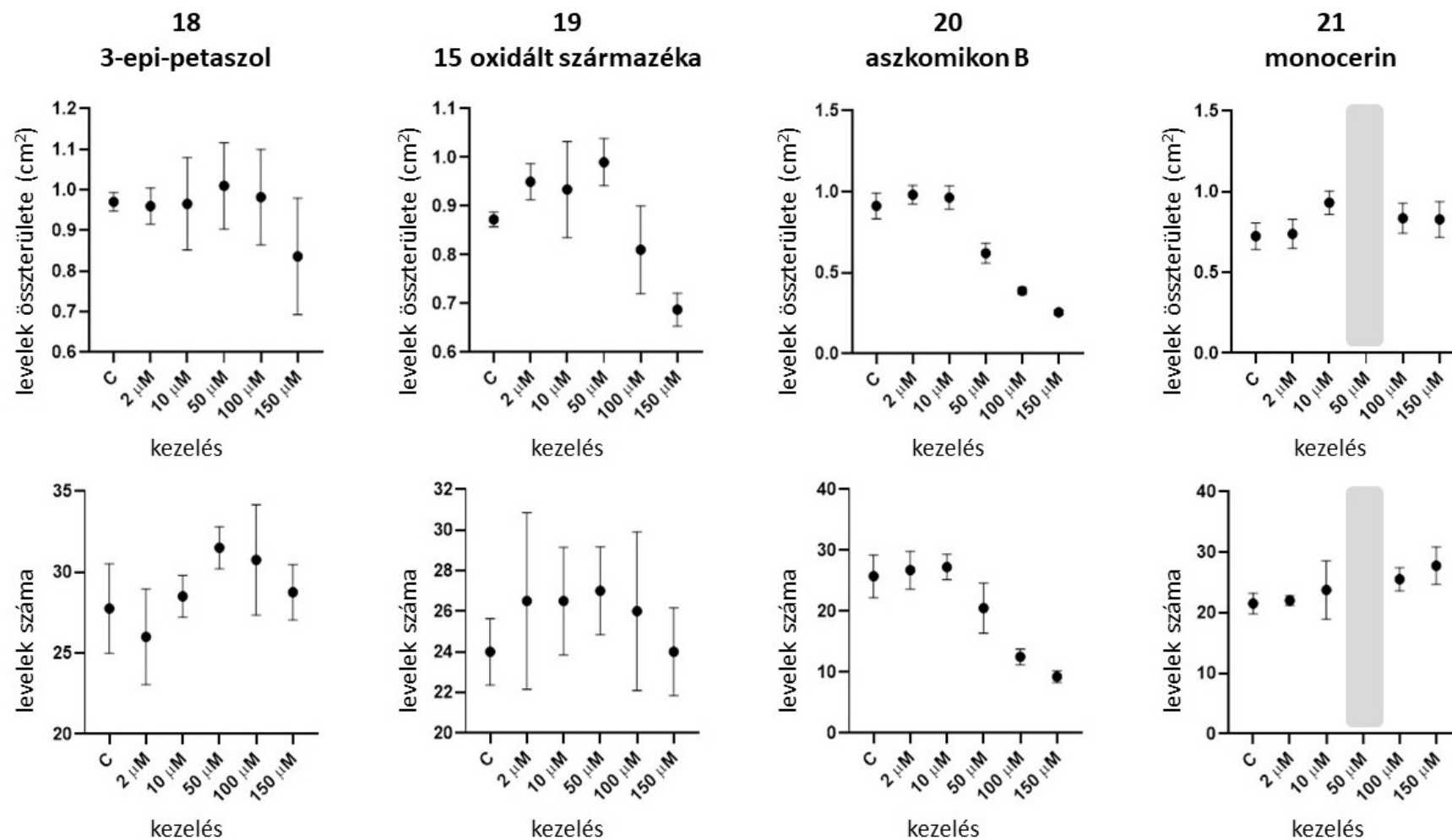
F.19. ábra. Tarackbúzából származó *Setophoma terrestris* izolátumok tenyészeiben azonosított szekalonsav izomerek (44–47) pozitív (A–D) és negatív (A'–D') ionizáció mellett felvett HR-MS spektrumai.

A**B**

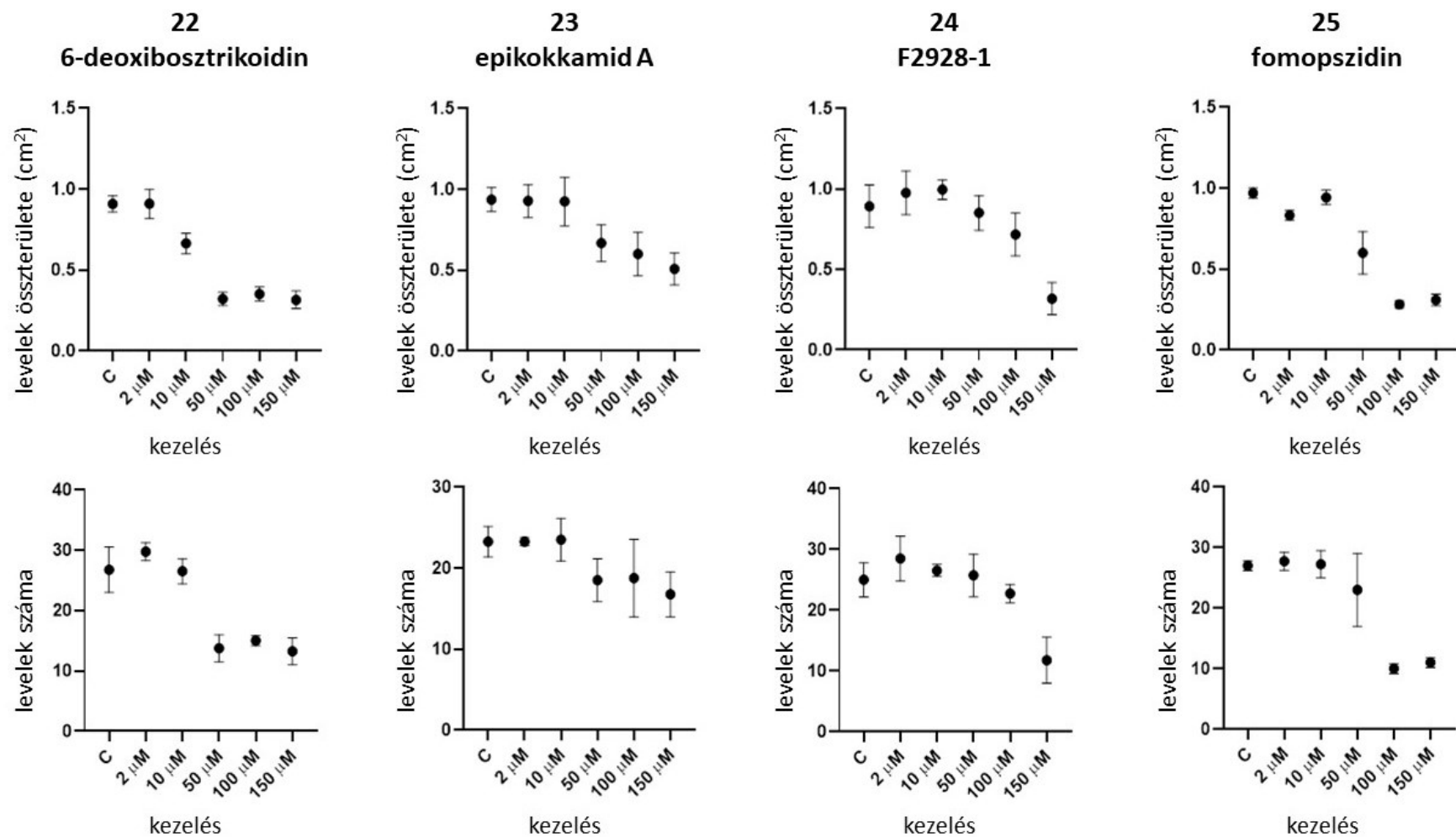
F.20. ábra. *Flavomyces fulophazii* tenyészetekből izolált vermelhotin (V), hidroxi-vermelhotin (OH-V) és flavoklorin A (FI) saláta gyökér- (A) és hipokotilhosszára (B) gyakorolt hatása 1–100 µM koncentrációtartományban (párhuzamosok száma: 5, kontroll (C): desztillált víz). Berek-Nagy és mtsai (2021) S9. ábra módosítva.



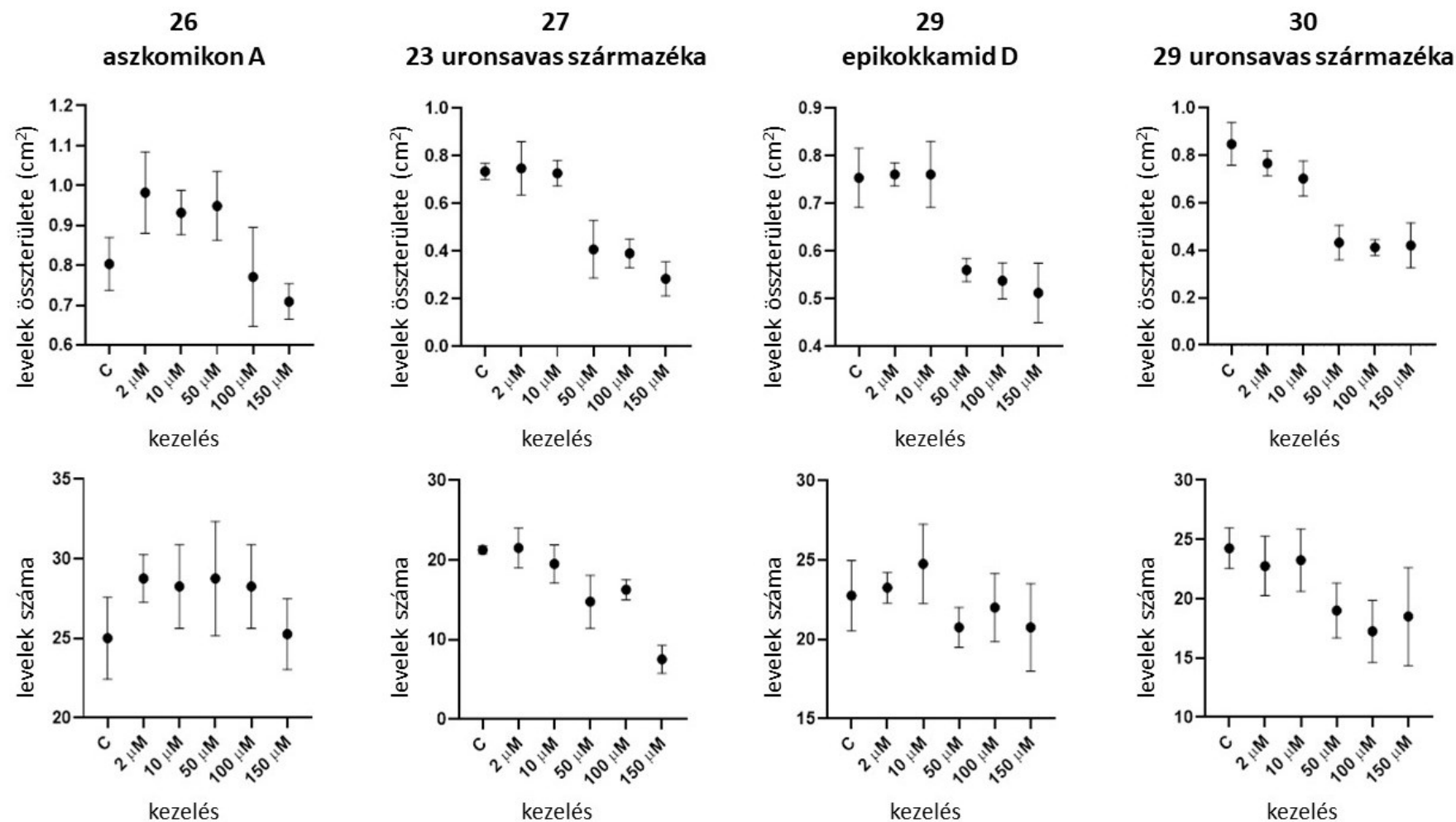
F.21. ábra. *Darksidea* tenax tenaxból izolált vegyületek békalencse növekedésére gyakorolt hatása. Folytatás a következő oldalon.



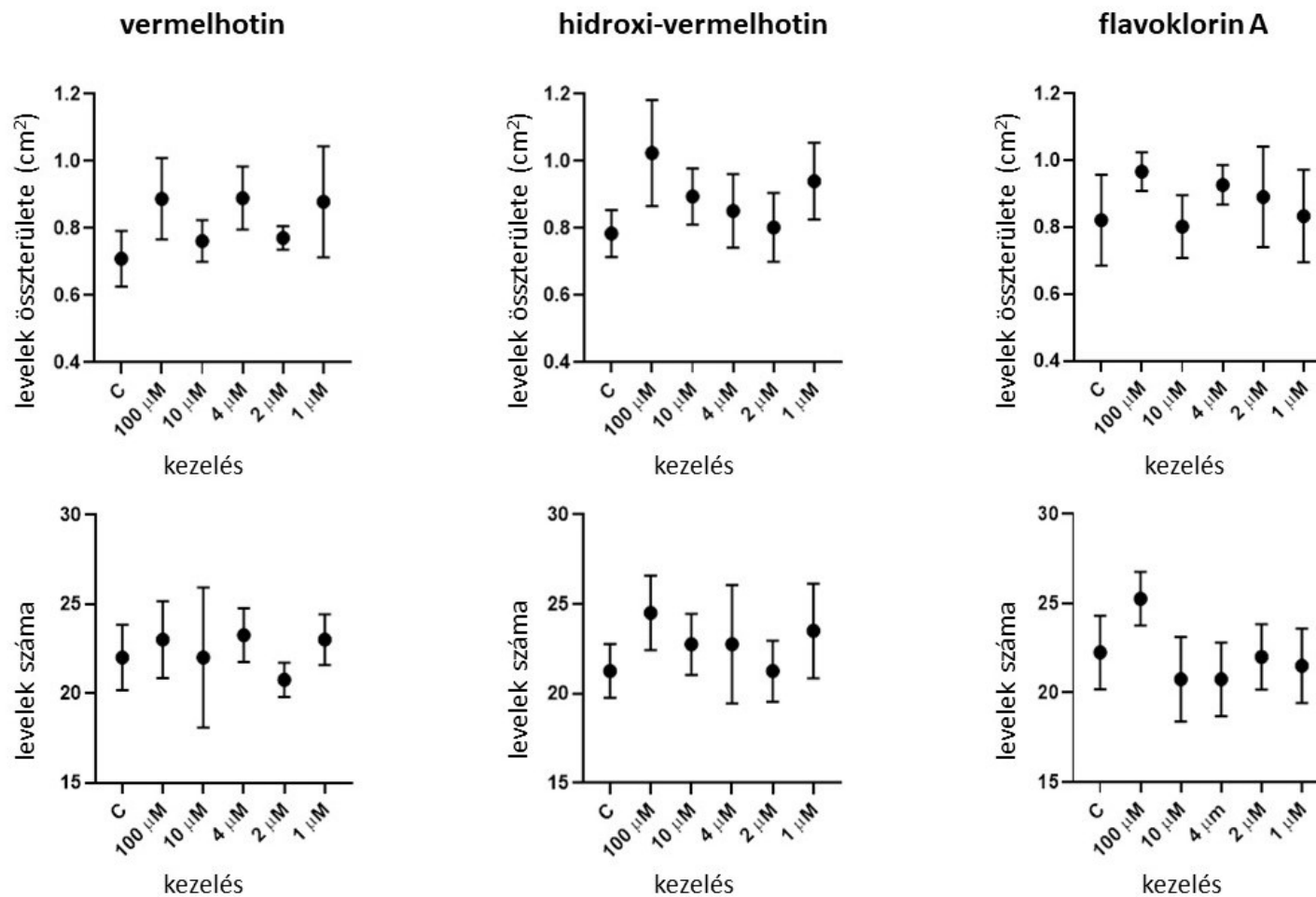
F.21. ábra folytatása. *Darksidea* tenyészetekből izolált vegyületek békalencse növekedésére gyakorolt hatása. Folytatás a következő oldalon.



F.21. ábra folytatása. *Darksidea* tenyészetekből izolált vegyületek békálcse növekedésére gyakorolt hatása. Folytatás a következő oldalon.



F.21. ábra folytatása. *Darksidea* tenyészetekből izolált **13–16, 18–27, 29** és **30** vegyületek békალencse leveleinek összterületére és számára gyakorolt hatása 2–150 µM koncentrációtartományban (párhuzamosok száma: 6, kontroll (C): Steinberg tápoldat (Naumann és mtsai 2007)). A **17** és **28** vegyületeket elegendő mennyiségük hiányában nem teszteltük. A **21** vegyület 50 µM koncentrációjú oldatával kapott eredményeket technikai okok miatt kizártuk.



F.22. ábra. *Flavomyces fulophazii* tenyészetekből izolált vermehotin, hidroxi-vermehotin és flavoklorin A vegyületek békalencse leveleinek összterületére és számára gyakorolt hatása 1–100 µM koncentrációtartományban (párhuzamosok száma: 6, kontroll (C): Steinberg tápoldat (Naumann és mtsai 2007)). Berek-Nagy és mtsai (2021) S9. ábra módosítva.

12. PUBLIKÁCIÓS LISTA

A doktori értekezés témájához kapcsolódó publikációk:

Impakt faktorral rendelkező tudományos folyóiratban megjelent cikkek:

- Berek-Nagy PJ, Tóth G, Bősze Sz, Horváth LB, Darcsi A, Csíkos S, Knapp DG, Kovács GM, Boldizsár I (2021) The grass root endophytic fungus *Flavomyces fulophazii*: An abundant source of tetramic acid and chlorinated azaphilone derivatives. *Phytochemistry* **190**: 112851. (IF: 4,004; Q1)
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.112851>
- Knapp DG, Imrefi I, Boldpürev E, Csíkos S, Akhmetova G, Berek-Nagy PJ, Otgonsuren B, Kovács GM (2019) Root-colonizing endophytic fungi of the dominant grass *Stipa krylovii* from a Mongolian steppe grassland. *Frontiers in Microbiology* **10**: 2565. (IF: 4,236; Q1)
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02565>

Konferenciák – összefoglalók:

- Berek-Nagy PJ, Tóth G, Kraszni M, Darcsi A, Bősze Sz, Akhmetova G, Csíkos S, Knapp DG, Boldizsár I, Kovács GM (2022) Secondary metabolites from two grass root endophytic fungal genera: *Flavomyces* and *Darksidea*. Eötvös Loránd University Doctoral School of Biology Conference 2022. Budapest, Magyarország, 2022. december 1. (angol nyelvű előadás)
- Berek-Nagy PJ, Tóth G, Kraszni M, Boldizsár I, Knapp DG, Akhmetova G, Kovács GM (2022) Secondary metabolites from the dark septate endophytic fungal genus *Darksidea*. Fiatal Biotechnológusok Országos Konferenciája. Gödöllő, Magyarország, 2022. április 11–12. (magyar nyelvű előadás)
- Berek-Nagy PJ, Tóth G, Boldizsár I, Kraszni M, Knapp DG, Akhmetova G, Kovács GM (2021) Natural products of the root endophytic fungus *Darksidea alpha*. 6th Central European Forum for Microbiology. Kecskemét, Magyarország, 2021. október 13–15. (angol nyelvű poszter és poszter előadás)
- Knapp DG, Tóth G, Berek-Nagy PJ, Boldizsár I, Kraszni M, Akhmetova G, Csíkos S, Maciá-Vicente JG, Porras-Alfaro A, Zabalgogezcoa I, Kovács GM (2021) Lighting the dark – taxonomic and metabolic diversity of the worldwide common grass root associated fungal genus *Darksidea*. 6th Central European Forum for Microbiology. Kecskemét, Magyarország, 2021. október 13–15. (angol nyelvű előadás)

- Berek-Nagy PJ, Tóth G, Darcsi A, Knapp DG, Bősze Sz, Boldizsár I, Kovács GM (2020) Secondary metabolites of *Flavomyces fulophazii*, a root endophyte of semiarid sandy grasslands. Fiatal Biotechnológusok Országos Konferenciája - online. Debrecen, Magyarország, 2020. november 19. (magyar nyelvű poszter és poszter előadás)
- Berek-Nagy PJ, Tóth G, Knapp DG, Boldizsár I, Kovács GM (2019) Tetramic acid alkaloids of *Flavomyces fulophazii*, a common root endophyte of semiarid sandy grasslands. 18th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology. Budapest, Magyarország, 2019. július 3–5. (angol nyelvű poszter)
- Imrefi I, Boldpurev E, Csikos S, Berek-Nagy PJ, Akhmetova G, Otgonsuren B, Kovács GM, Knapp DG (2019) Fungal root endophytes of the dominant grass *Stipa krylovii* in Mongolian steppe region. 18th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology. Budapest, Magyarország, 2019. július 3–5. (angol nyelvű poszter)
- Berek-Nagy PJ, Boldizsár I, Dima B, Imrefi I, Knapp DG, Kovács GM (2019) Endophytic fungi and secondary metabolites in compost for mushroom cultivation. Power of Microbes in Industry and Environment. Sveti Martin na Muri, Horvátország, 2019. május 15–18. (angol nyelvű poszter)
- Berek-Nagy PJ, Boldizsár I, Imrefi I, Knapp DG, Kovács GM (2018) Endophytic fungi and secondary metabolites of mushroom compost and its raw plant materials. A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2018. évi Nagygyűlése és a XIII. Fermentációs Kollokvium. Eger, Magyarország, 2018. október 17–19. (magyar nyelvű poszter)
- Berek-Nagy PJ, Boldizsár I, Knapp DG, Kovács GM (2018) Screening of endophytic fungi and metabolites of plant materials used in mushroom compost. Fiatal Biotechnológusok Országos Konferenciája. Budapest, Magyarország, 2018. március 28–29. (magyar nyelvű poszter és poszter előadás)

A doktori értekezés témájához nem közvetlenül kapcsolódó publikációk:

Konferenciák – összefoglalók:

- Knapp DG, Berek-Nagy PJ, Imrefi I, Herczeg G, Kovács GM (2016) Fél-száraz homokpusztagyepek gyökér-endofiton gombáinak inter- és intraspecifikus funkcionális diverzitása. A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2016. évi Nagygyűlése. Keszthely, Magyarország, 2016. október 19–21. (magyar nyelvű előadás)

- Knapp DG, Berek-Nagy PJ, Imrefi I, Németh JB, Hegedűs P, Tamás L, Herczeg G, Kovács GM (2015) Félzáraz homokterületek sötét szeptált endofiton (DSE) gyökérkolonizáló gombái – diverzitás és funkció. 10. Magyar Ökológus Kongresszus. Veszprém, Magyarország, 2015. augusztus 12–14. (magyar nyelvű előadás)
- Knapp DG, Berek-Nagy PJ, Crous PW, Groenewald JZ, Imrefi I, Herczeg G, Kovács GM (2015) Diversity of pleosporalean dark septate endophytic (DSE) fungi of semiarid areas. 8th International Conference on Mycorrhiza. Flagstaff, Arizona, USA, 2015. augusztus 3–7. (angol nyelvű előadás)
- Knapp DG, Berek-Nagy PJ, Imrefi I, Herczeg G, Kovács GM (2015) Intraspecific functional diversity of dark septate endophytic fungi of semiarid sandy grasslands. Rhizosphere4 Congress. Maastricht, Hollandia, 2015. június 21–25. (angol nyelvű előadás)