

DIPLOMADOLGOZAT

Plank Patrik

2023



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Szent István Campus

Genetika és Biotechnológia Intézet

Mezőgazdasági biotechnológus mesterképzési szak

**A hazai nagyvadak természetes tápláléknövényeinek
mikotoxin analízise**

Belső konzulens: Dr. Skoda Gabriella

Tudományos munkatárs

Belső konzulens

**intézete/tanszéke: Genetika és Biotechnológia
Intézet, Állatbiotechnológia
Tanszék**

Készítette: Plank Patrik

Gödöllő

2023

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	4
2. Szakirodalmi áttekintés	6
2.1. Mikotoxinok.....	6
2.2. A mikotoxinokat termelő penészgombák csoportosítása	8
2.3. A mikotoxinok állati szervezetekre gyakorolt hatása.....	10
2.4. Főbb mikotoxinok	11
2.4.1. Aflatoxin.....	11
2.4.2. Ochratoxinok	13
2.4.3. Fumonizin.....	14
2.4.4. Zearalenon	16
2.4.5. Deoxinivalenol (Vomitoxin)	18
2.5. Hazai szarvasfélék táplálkozásbiológiája.....	19
2.5.1. Gímszarvas (<i>Cervus elaphus</i>).....	19
2.5.2. Dámszarvas (<i>Dama Dama</i>)	20
2.5.3. Őz (<i>Capreolus capreolus</i>)	21
2.6. Az ITS (internal transcribed spacer) szekvenálás	21
2.7. Sabouraud agar	22
3. Anyag és módszerek.....	23
3.1. Mikotoxin mérés	23
3.1.1. Minták előkészítése	23
3.1.2. Immunoassay vizsgálatok	24
3.1.3. Zearalenon mérés	24
3.1.4. Aflatoxin mérés	25

3.1.5. Deoxynivalenol (DON) mérése.....	25
3.1.6. Fumonizin B1 mérés	26
3.1.7. T2/HT2 mérés	26
3.2. Hormonmérések	27
3.3. Penészgomba fajok meghatározása	27
3.4 Statisztikai feldolgozás.....	27
4. Eredmények és értékelésük	28
4.1. Mikotoxinok.....	28
4.1.1. Dámszarvasok bendőtartalmának mikotoxin analízise	28
4.1.2. Aflatoxin mérés eredményei	28
4.1.3. Zearalenon mérés eredményei.....	29
4.1.4. Deoxynivalenol mérés eredményei	30
4.1.5. Fumonizin B1 mérés eredményei.....	31
4.1.6. T2-toxin mérés eredményei.....	31
4.2. Hormonvizsgálatok eredménye.....	32
4.3. Széna- és makk minták mikotoxin analízise	34
4.4. Penészgombák fajmeghatározása	35
5. Következtetések és javaslatok	37
6. Összefoglalás.....	39
7. Irodalomjegyzék	41
8. Rövidítések jegyzéke.....	44
9. Ábrák és táblázatok jegyzéke	45
10. Melléklet.....	46

1. Bevezetés

A mikroszkopikus gombák a szabad természetben nagy számban fordulnak elő. Szerepük a szerves vegyületek lebontásában nélkülözhetetlen. Fejlődésük, és növekedésük bizonyos szakaszaiban olyan másodlagos anyagcserefolyamatok zajlanak, melyek során kémiaiilag bonyolult szerkezetű anyagok keletkeznek, az úgynevezett mikotoxinok (Brydl 1987). A mikotoxinok, különböző fonalgombafajok mérgező, alacsony molekulatömegű másodlagos anyagcseretermékei. A másodlagos metabolit termelés a gombák válaszüreakciója a kedvezőtlen környezeti feltételekre és stresszre úgy, mint a nem megfelelő tápanyagellátás, a szárazság, vagy a túl sok nedvesség. Ezek az anyagok nem szükségesek a gomba további növekedéséhez, csupán a védekezést szolgálják a kedvezőtlenebb életfeltételek mellett. (Rodrigues & Naehrer, 2012) A mikotoxinok különböző kémiai szerkezetű vegyületek: lehetnek zsírsavszármazékok (rubratoxin), fenolok (aflatoxin, szterigmatocisztin), fenol gyűrű felszakadásából származó vegyületek (patulin, penicillinsav) stb. Ahogy a kémiai szerkezetük, úgy a szervezetre gyakorolt hatásuk is sokféle. Lehetnek máskárosító, hepatotoxikus hatásúak (pl. aflatoxin), vesekárosítók (pl. ochratoxin), idegmérgek (pl. citreovidin, patulin), hathatnak még a szaporodásbiológiai folyamatokra és a hormonrendszerre (pl. zearalenon) (Deák et. al. 1980). A mikotoxinok hőstabil - emellett íztelen, szagtalan- vegyületek, melyek hatása nem szüntethető meg a hagyományos élelmiszer- és takarmányelőállítási módszerekkel. (Kótiné & Dégen 2015).

A mikotoxinok által előidézett megbetegedések (mikotoxikózisok) egyre nagyobb jelentőséggel bírnak az állat- és humán egészségügyben szerte a világon. Ez a jelenség visszavezethető arra, hogy az intenzíven termesztett gazdasági növényeink érzékenyebbek egyes gombás megbetegedéssel szemben, illetve megváltozott a takarmány előállítási technológia. A mikotoxin termelő gombafajok előfordulása éghajlatonként eltérő, melyekhez az érintett növényfajok és a mikotoxin terhelésnek kitett állatfajok, illetve humán populációk hosszú évek alatt adaptálódtak. A felgyorsult klímaváltozás következményeként a gombák elterjedési területe megváltozott, és az új területeken megjelenő mikotoxinok súlyosabb egészségügyi kockázattal járnak a nem adaptálódott fajok, populációk számára. Az eddig jelen lévő, és az újonnan megjelenő mikotoxin vegyületek együttes hatása nehezen vizsgálható, de feltételezhetően ez a multimikotoxin hatás is jelentős egészségügyi kockázatot jelent. Ezek a vegyületek önmagukban, és viszonylag alacsony koncentrációban is képesek kedvezőtlenül hatni az immunrendszer működésére, melynek következtében a fakultatív patogén kórokozók is teret kaphatnak a szervezetben. Jelentőségük így nem csak az állatokban okozott kár miatt számottevő, hanem közegészségügyi kockázatuk is megnő (Várnagy 2002; Sugár 2007).

Napjainkban az emberek és állatok különböző környezeti ártalmaknak vannak kitéve. A szervezetre káros hatások mindig is jelen voltak, de az ipari forradalom óta ezeknek a száma megsokszorozódott (Kovács 2010). Számos megbetegedést írtak már le a történelem során melyet gombák és azok által termelt toxinok okoztak/okozhattak. Ilyen a 19. században Japánban leírt rizs okozta megbetegedés, az 1090-ben leírt Szent András tüze, az 1891-ben Szibériában leírt súlyos megbetegedések melyekről később igazolódott, hogy mikotoxikózis, az 1942-47 között Orenburg városában előforduló tömeges megbetegedések, vagy talán a legismertebb az 1960-as években a földimogyorólisztben jelenlévő aflatoxin okozta tömeges pulyka elhullás (Deák et. al. 1980; Kovács 2010, Gasztonyi 1979).

Az elmúlt években a hazai őzek, szarvas fajok egyes populációinál számos egészségkárosodásra, a szaporodásbiológiai mutatók romlására utaló jelet figyeltek meg a vadgazdálkodók. A dél-dunántúli régióban európai dámszarvasoknál (*Dama dama*), az Alföldön őzeknél (*Capreolus capreolus*) azonosítottak hormonális zavarokat, trófeaépítési problémákat, alacsonyabb szaporodási rátát (Szőke et al., 2019). Számos leírt kutatás igazolta apró- és nagyvadak esetében, hogy az egyes mikroszkópikus gombák által termelt toxinok káros hatással vannak az egyedek fejlődésére. Ilyen például a *Stachybotrys alternans* által termelt toxin okozta vese és máj károsodás kérődzőknél, a *Fusarium*-toxinok által őzeknél, szarvasoknál és vaddisznóknál előidézett szaporodásbiológiai problémák, illetve a szarvasok és őzek esetében a hím egyedek agancs felrakásban/levetésében okozott zavarok (Sugár 2007; Homonnay & mts 1977).

A dolgozatomban alapjául szolgáló mérésekkel célom volt felmérni egyes egyedek által elfogyasztott táplálék mikotoxin koncentrációját, illetve a lehetséges takarmányok (makktermés, széna) mikotoxin terheltségének vizsgálata, és azok felületén/belsejében lévő penészgombák faj- és fajta azonosítása. Ezen mérések és vizsgálatok alapján pontosabb képet kaphatunk arról, hogy a különféle penészgombák másodlagos anyagcsere termékei, és azok együttes előfordulása hogyan befolyásolhatja a vadgazdálkodás szempontjából jelentős (anyagilag is) trófea növekedést, illetve a szaporodásbiológiai tulajdonságokat.

2.Szakirodalmi áttekintés

2.1.Mikotoxinok

Évszázados megfigyelése az emberiségnek, hogy az anyarozs őrleményt tartalmazó lisztből készült ételek mérgező hatásúak (ergotizmus, hányás és görcsök a tünetei, halálos kimenetelű is lehet). Az első írásos feljegyzés 1090-ből származik és a Szent András tüze nevet kapta. Japánban a 19. században feljegyeztek penészes „sárga” rizs fogyasztása után fellépő megbetegedéseket. 1891-ben Szibériában írtak le súlyos megbetegedések melyekről később igazolódott, hogy mikotoxikózis, majd 1942-47 között Orenburg városában előforduló tömeges megbetegedésekről is kiderült, hogy mikotoxin mérgezés okozta a megbetegedéseket. De talán a legismertebb az 1960-as években a földimogyorólisztben jelenlévő aflatoxin okozta tömeges pulyka elhullás (Deák et. al. 1980; Kovács 2010, Gasztonyi 1979).

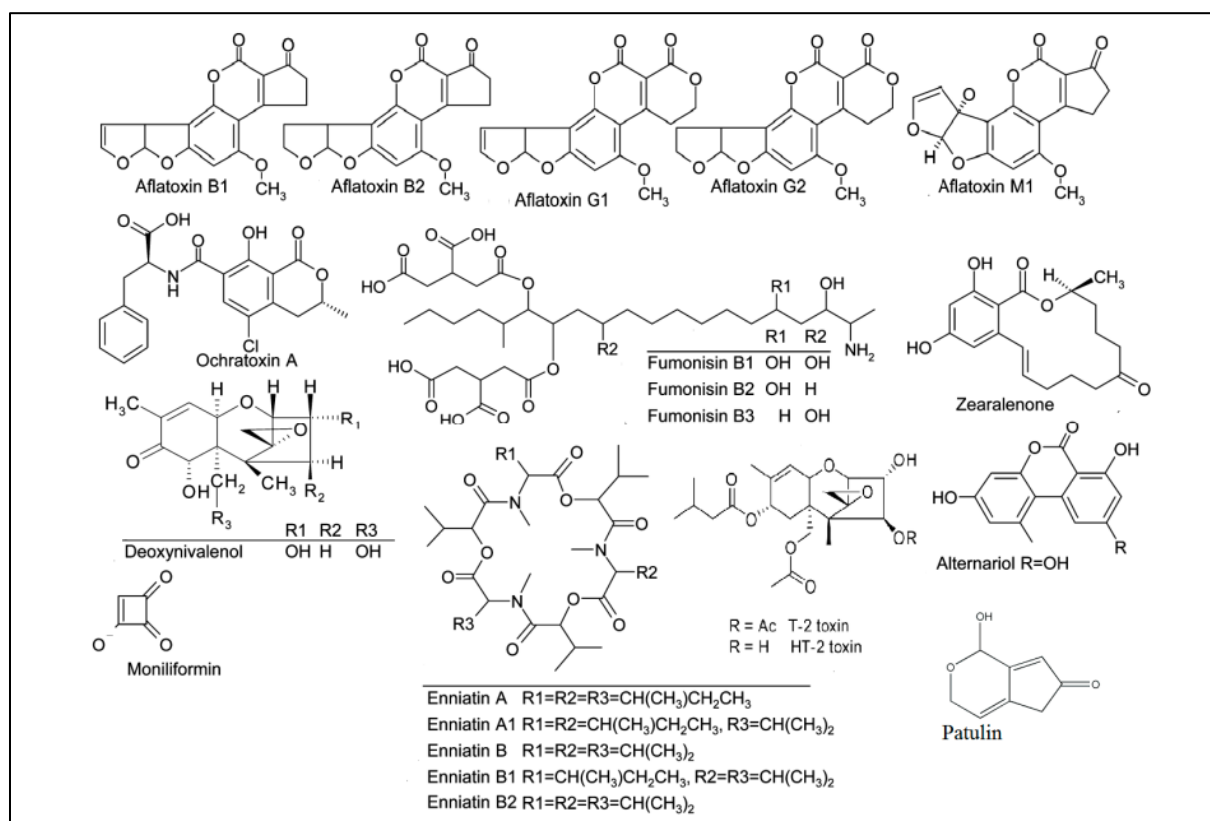
A mikroszkopikus gombák nagy szerepet játszanak a szerves anyagok lebontásában az egész világon. Szinte minden éghajlati övezetben megtalálhatók a természetben, illetve a mesterségesen létrehozott környezetekben is. A felvett szerves anyagokból a gombatest a saját alkotó elemeit állítja elő a szaporodás és növekedés folyamatában egyaránt. Az építőanyagok mellett azonban másodlagos anyagcseretermékeket is képeznek, melyek nincsenek befolyással a növekedésre. Ezeket a toxikus biológiai aktivitással rendelkező anyagokat nevezzük mikotoxinoknak (Cserháti 2013). Kállai 1978-ban még 300 különböző mikotoxinról írt, viszont napjainkban 1000 mikotoxin ismert eddig, valamint több 100 gombafaj, amik termelhetnek különféle toxinokat. Megjegyzendő, hogy a penész jelenlét nem utal mikotoxin szennyezetségre, hiszen nem minden penészgomba mikotoxintermelő gomba, és a mikotoxinnal való szennyezettség nem utal a penész jelenlétére (Mézes 2013; Cserháti 2013; Kállai 1978).

A mikotoxinok mérgező, alacsony molekulatömegű másodlagos anyagcseretermékei számos a termőföldön és raktározás során károsító fonalgombafajnak. A másodlagos metabolit termelés a gomba válaszreakciója a kedvezőtlen környezeti feltételekre és stresszre úgy, mint a nem megfelelő tápanyagellátás, a szárazság vagy a túl sok nedvesség. Ezek az anyagok nem szükségesek a gomba további növekedéséhez, csupán a védekezést szolgálják a kedvezőtlenebb életfeltételek mellett. (Rodrigues & Naehrer, 2012). Ezek az anyagok a primer anyagcsere termékekhez képest kémiai értelemben bonyolultabbak, biológiai aktivitással rendelkeznek, és kiválasztódnak a környezetbe. A gombák szaporodásuk során elérnek egy olyan fázist, mikor a képződés és a pusztulás egyensúlyba kerül. Ilyenkor áttérnek az elsődleges anyagcseretermékek

képzéséről a másodlagos anyagcseretermékek képzésére, amelynek során mikotoxinok keletkeznek (Babinszky & Hallas 2019).

Bár jelenleg 1000 mikotoxin ismert, mégis kiemelten csak csekély számúval foglalkoznak világszinten (1. Ábra). Ezek közül is a legjelentősebbek (Tamime 2017):

- Aflatoxin- B1, B2, G1, G2, M1,
- Ochratoxin (ochratoxin A, ochratoxin B, ochratoxin C)
- Fumonizin B1
- Zearalenon (α -zearalenol, β -zearalenol)
- Deoxynivalenol (DON)
- T2/HT2 toxin



1. Ábra. A főbb mikotoxinok kémiai szerkezeti képletei (Agriopoulou et. al. 2020)

2.2. A mikotoxinokat termelő penészgombák csoportosítása

A penészgombákat jellegzetes kártételük alapján: Christensen és Kaufmann kártételük helye és módja, illetve nedvesséigényük alapján szántóföldi és raktári gombákra osztotta (Mézes 2023). A szántóföldi gombák betakarítás előtt fertőzik meg a növényeket, a raktári gombák csak a betakarítás után fordulnak elő (1. Táblázat). A toxikogenikus szántóföldi gombák közül három típust különböztethetünk meg: növényi kórokozókat, mint a *Fusarium graminearum* (deoxinivalenol-termelő) és *F. verticillioides* (fumonizin-termelő), olyan gombákat, amelyek öregedő vagy stresszes növényeken (pl. *Aspergillus flavus* (aflatoxin termelő)) nőnek. Kezdetben kolonizálják a növényt a betakarítás előtt, és hajlamosítják az árut a betakarítás utáni mikotoxin-szennyezésre, mint például a *Penicillium verrucosum* (ochratoxin termelő) és az *A. flavus* (Tola et. al. 2016).

A penészgombákat nem csak a kártétel helye alapján lehet csoportosítani, hanem nedvesség- és oxigén igényük alapján is. Nedvesséigény alapján van higrofil (kifejezetten a nedvességet igénylő), mezofil (közepes nedvesség igényű) és xerofil (szárazsággkedvelő) penészgombák. Szaporodási képességük alapján is három csoportra oszthatók. Ez a három csoport az efemer gombák (gyorsan elvesztik szaporodó képességüket a tárolás során), a mezobionta (kedvező nedveség tartalom mellett szaporodás képességüket megtartják raktározás során), ill. a perzisztens fajok (szaporodó képességüket hosszú távon megtartják, így jelentős kártételt tudnak okozni) (Mézes 2023).

Különböző tényezők befolyásolják mind a növekedést, mind a mikotoxinok termelését számos gombatípusban. Ezek a befolyásoló tényezők a hőmérséklet, a páratartalom, a környezet, a pH, a vízaktivitás, tápanyagok, az oltottság szintje, a szubsztrát természete, fiziológiai állapot és a mikrobiális kölcsönhatások. Éppen ezért nehéz leírni fiziológiás körülmények között a növekedés és a termelés optimális feltételeit. A 10 és 40 °C közötti hőmérséklet, 8,4 pH és 0,70 feletti a_w azok a körülmények, amelyek között a gombák általában fejlődnek. A szántóföldi gombáknak jellemzően 70–90%-os relatív páratartalomra, 20–25 °C-os hőmérsékletre van szükségük, $a_w > 0,85$ az aktív növekedéshez, és 0,99 a_w az optimális növekedéshez (Agriopoulou et. al. 2020).

Az aktív növekedés az a fázis, amikor a gomba nagy sebességgel növekszik a micéliumban. Ezzel ellentétbe, a raktáripénészek az alacsonyabb páratartalomhoz és magasabb hőmérséklethez alkalmazkodnak. A legtöbb *Aspergillus*- és *Penicillium* faj legalább 0,75–0,85

aw-t igényel, és jól fejlődik 0,93–0,98 aw-nál. *Aspergillus* fajok aktív növekedéséhez 0,73 aw szükséges, míg a *Penicillium* fajok legalább 0,78–0,80 aw-t igényelnek (Rodrigues et. al. 2012).

1. Táblázat A leggyakoribb mikotoxinokat termelő penészgombák (Cserhádi 2013)

Penészgomba nemzetség	Penészgomba fajok	Mikotoxin(ok)
<i>Aspergillus</i>	<i>A. flavus</i> <i>A. parasiticus</i> <i>A. nomen</i> <i>A. flavus</i> <i>A. versicolor</i>	aflatoxin-B1, B2, G1, G2 ochratoxin-A patulin ciklopiázonsav
<i>Fusarium</i>	<i>F. verticilloides</i> <i>F. moniliforme</i> <i>F. proliferatum</i> <i>F. graminearum</i> <i>F. avenaceum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. poae</i> <i>F. equiseti</i> <i>F. acuminatum</i> <i>F. sambucinum</i> <i>F. sporotrichoides</i> <i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. sporotrichoides</i>	Fusarium B1, B2, B3 trichothecén vázasok: T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol, DON zearalenon
<i>Penicillium</i>	<i>P. verrucosum</i> <i>P. viridicatum</i> <i>P. citrinum</i> <i>P. verrucosum</i> <i>P. roqueforti</i> <i>P. cyclopium</i> <i>P. camamberti</i> <i>P. expansum</i> <i>P. claviformae</i> <i>P. roqueforti</i>	ochratoxin-A citrinin roquefortin, PR toxin ciklopiázonsav patulin
<i>Stachybotrys</i>	<i>S. chartarum</i>	trichothecén vázasok
<i>Alternaria</i>	<i>A. alternata</i>	alternariol, alternariol-metil-éter, altenuen, tenuazon-sav

2.3. A mikotoxinok állati szervezetekre gyakorolt hatása

A mikotoxin hatását befolyásolja a fogyasztás időtartama, a máj, mint detoxikáló szerv működőképessége, valamint a szervezetben jelenlévő különböző mikotoxinok együttes, vagy egymásra gyakorolt hatása (Várnagy 2002). A jelenlegi kutatások azt mutatják, hogy az alacsony dózisnak való kitettség nehezen megjósolható mellékhatásokkal jár. A megfigyelt változásokat az alkalmazott dózis és az expozíció időtartama befolyásolja (Gajecka et. al. 2022)

A szarvasmarhánál az ismert kórokozókön kívül a penészgombák toxinjai is képesek vetélést okozni. 1983-ban már 20 féle gombát tenyésztettek ki szarvasmarha magzatokból, és bizonyították a vetélésben játszott kóroktani szerepüket. A tenyésztett gombafajok közül legtöbb esetben az *Aspergillus* és a *Mucor* nemzetség gombái fordultak elő (Horváth 1983).

Az aflatoxin iránti érzékenység állatfajonként eltérő (2. Táblázat). A hosszantartó aflatoxin bevitel termeléseszköket idéz elő a csökkent takarmány felvételtől adódóan. Hatására a máj károsodik, csökken a vér A- és E-vitamin tartalma, fokozott lipidperoxidáció és immunválasz csökkenés lép fel. Számos más területen is kárt tud okozni: csökken az emésztőenzimek aktivitása, D-vitamin, vas-, foszfor- és rézanyagcsere zavarokat okoz (Babinszky & Hallas 2019).

2. Táblázat Az aflatoxin B1 akut toxicitása különböző állatfajoknál (Brydl 1986)

Állatfaj	LD ₅₀ mg/kg
Csirkeembrió	0,025
Kacsa	0,36
Nyúl	0,3
Macska	0,55
Sertés	0,62
Pisztráng	0,81
Kutya	0,5-1,0
Juh	1,0-2,0
Tengerimalac	1,4
Majom	2,2-7,8
Csirkeembrió	6,3
Patkány	7,2-16,2
Egér	9,2
Hörcsög	10,2

A mikotoxinok hosszú távú hatása nőivarú állatokban súlyos terméketlenséget válthat ki. Romlik a vemhesülési arány, és megnő a visszaivarzások száma, álvemheség alakulhat ki.

Növekedhet a holt magzatok aránya, az almok szórtsága, újszülött ösztrogén szindróma is kialakulhat. Kérődzőknél a T2-toxin testszerte vérzéseket okoz, kivéve a borjaknál. Klinikai tünetként levertség, hátulsó testfél bénulás, gyakori bélsárürítés jelentkezik (Várnagy 2002).

A *Stachybotrys alternans* gomba által termelt toxinok a szálak takarmányokat elfogyasztó kérődző vadfajainkban okoz megbetegedéseket. A felvett toxin koncentrációjától függően képes enyhébb máj- és vese károsodást okozni, vagy súlyosabb esetekben idegrendszeri tünetek is kialakulnak. A *Fusarium* penészgombák által termelt toxinok nőivarú vadfajainkban is szaporodásbiológiai zavarokat okoz (péraduzzanat, vetélés, átmeneti meddőség, torz magzat fejlődés). Szarvasfélék hím egyedeinél a tartós F2-toxin (zearalenon) fogyasztásának hatására akár fél vagy egy évvel is eltolódhat az agancs levetése. Ennek következtében alakulhat ki a „duplakoszorú” képződés (Sugár 2007, Homonnay & mts 1977).

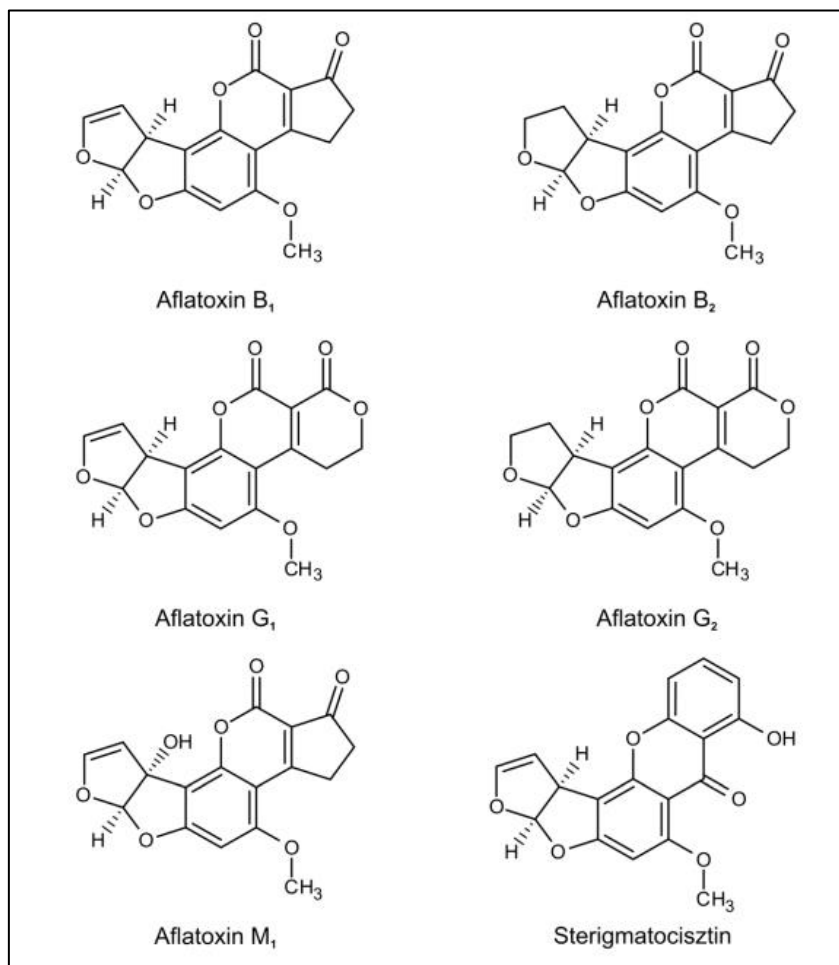
2.4. Főbb mikotoxinok

2.4.1. Aflatoxinok

Az aflatoxinokat elsősorban az *Aspergillus flavus* és az *Aspergillus parasiticus* fajok termelik, de ezeken kívül több másik faj is termelheti. A több száz mikotoxin közül mindig is az aflatoxint tartották a fő veszélyforrásnak az emberekre nézve. Az aflatoxin a szennyezett kukoricában, földimogyoróban és rizsben előforduló mikotoxinok leggyakoribb típusa, amely hatással van az állatállományra, és az emberi egészséget is veszélyezteti. Az aflatoxin szerkezetéből adódóan furano-kumarin származék. Az előforduló aflatoxinok (2. Ábra) közül (aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂) egészségügyi és toxicitási kockázatot tekintve az aflatoxin B₁ (AFB₁) a legjelentősebb. Számos természetes, és mesterséges tényező befolyásolja az élelmiszerek és takarmányok aflatoxin tartalmát. Az aflatoxinok hőstabilak (főzésnek és hőkezelésnek ellenálló), de UV fény hatására elbomlanak (Babinszky & Hallas 2019; Hu et. al. 2023; Ahmad et. al. 2022). Az aflatoxinok eliminálhatók enzimatis transzformációval, mikrobiális biológiai lebontással vagy fitokemikáliák használatával, beleértve az antioxidánsokat, mint a galluszsav és a kvercetin, amelyek elnyomják az aflatoxin bioszintézist (Bansal et. al 2023). Előfordulásukra és toxicitásukra való tekintettel az Európai Bizottság határértékeket szabott meg a négy aflatoxin együttes jelenlétére, valamint az aflatoxin B₁ jelenlétére a takarmányban és az aflatoxin M₁ jelenlétére a tejben és tejtermékekben (Fels-Klerx et. al. 2019). Az aflatoxinok a poliketid bioszintézis úton keresztül képződnek. A bioszintézis prekursora hexanoát, mely zsírsav-szintáz közreműködésével keletkezik két malonil egységből. A

bioszintézis során egy tíz C-atomból álló dekaketid antrakinon, norzolorinsav keletkezik. A norzolorinsavból számos lépésben jönnek létre az aflatoxinok, az averantin – averufanin – averufin – versiconal – versicolorin – dihidrodemetilsterigmatocisztin – sterigmatocisztin reakcióúton. Az aflatoxin bioszintézis gének egy mintegy 70 kb méretű génklaszterben helyezkednek el az *A. flavus* genomban. A génklaszterben mintegy 25 gén található, amelyek termékei az aflatoxin bioszintézis különböző lépéseit katalizálják (Varga & mts 2014).

Az AFB₁ gyorsan felszívódik a vékonybélből, ezután a portális keringésnek köszönhetően a májba jut. A mitokondriális citokróm P450 oxidatív rendszer az AFB₁-et átalakítja aflatoxin M₁-é (AFM₁), 4- hidroximetabolittá. glükuronsavval konjugálva enterohepatikus körfolyamatot mutat, illetve kiürül a vizelettel, egy része pedig kiválasztódik a tejvel. A citokróm P-450 aktivációs szerepével magyarázható az, hogy miért a májat károsítják az aflatoxinok, mivel itt a legmagasabb a citokróm P-450 szintje (Varga & mts 2014; Babinszky & Hallas 2019).



2. Ábra Az *Aspergillus* fajok által termelt toxinok kémiai szerkezete (Varga & mts. 214)

Hu és munkatársai (2023) az aflatoxin karcinogenitását, mutációját, növekedési késleltetését, immunszuppresszióját és reprodukciós toxicitását vizsgálták sertés petesejteknél. *In vitro* modellt állítottak fel, és kimutatták, hogy az aflatoxin B1 megzavarta a kumuluszsejtek expanzióját és a petesejtek poláris testjének extrudálását. Az aflatoxin B1 expozíció megzavarta az ER (ösztrogén receptor) eloszlását és növelte a GRP78 expresszióját, jelezve az ER stressz előfordulását, és ezzel a megnövekedett kalciumraktározás is megerősíti. A cisz-Golgi apparátus szerkezete, egy másik intracelluláris membránrendszert is érintett, amely csökkent GM130 expressziót mutat. Az aflatoxin B1 expozíció alatt álló petesejtek aberráns lizoszóma felhalmozódást és magasabb LAMP2 expressziót mutattak, ami a lizoszóma membránvédelem markere, és ennek oka lehet az alacsony ATP-termeléssel és az apoptózis növekedésével járó aberráns mitokondrium működés, mivel a BAX is a proapoptotikus fehérjeje és a BCL2 fehérje családjába tartozik, ezért annak expressziója megnőtt és a riboszomális fehérje, ami egy apoptózissal kapcsolatos faktor, az RPS3 csökkent. Az aflatoxin B1 károsítja az intracelluláris membránrendszert: ER-t, a Golgi-készüléket, a lizoszómák és a mitokondriumok működését, ami befolyásolja a sertés petesejtek érési folyamatait.

2.4.2. Ochratoxinok

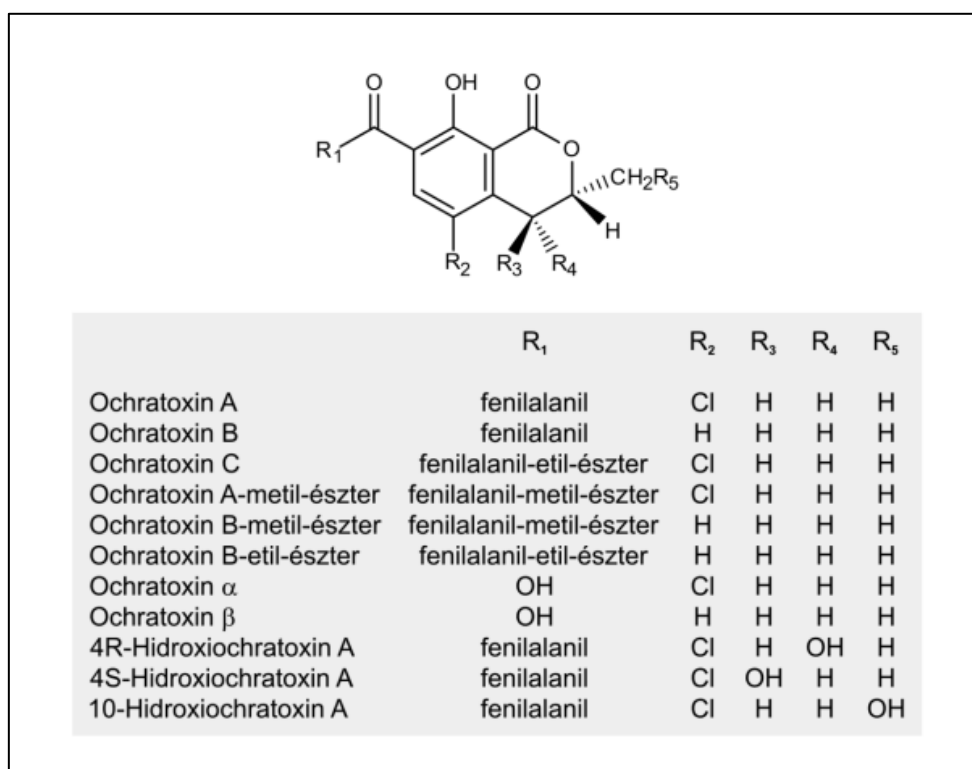
A penészgomba anyagcseretermékek 1965-ös szisztematikus vizsgálata során *Aspergillus ochraceus* szűrletéből egy erősen nefrotoxikus és hepatotoxikus vegyületet izoláltak, amit ochratoxin A-nak (OTA) neveztek el. Később azonosították az ochratoxin A kevésbé toxikus klórmentes származékát, az ochratoxin B-t (deklórozott ochratoxin), valamint etil- és metil-származékait (3. Ábra). Az ochratoxin A és B-n kívül jelen van még az ochratoxin C (etilezett ochratoxin), ochratoxin D (4-hidroxiokratoxin), 10- hidroxiokratoxin és ochratoxin α . Az ochratoxinokat az *Aspergillus* és *Penicillin* törzsek termelik, azokon belül is a fő termelők a *Penicillin verrucosum*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus carbonarius* és az *Aspergillus niger*. A vékonybélből gyorsan és jól felszívódik, emellett erősen kötődik a vér plazmafehérjeihez. A belekben található baktériumok hatására ochratoxin α is keletkezik, mely szintén felszívódik a belekből (Varga & mts 2014, Babinszky & Hallas 2019; Harčárová et. al. 2022).

Rágcsálókön végzett kísérletek is igazolták az OTA karcinogén hatásait, ezáltal az ochratoxin A az egyik legveszélyesebb vesekarcinogén. Az állatkísérletek alapján az ochratoxin A-t a Nemzetközi Rákkutatási Ügynökség, mint lehetséges humán karcinogént, a 2B csoportba sorolta (Szigeti 2018).

Az ochratoxin A toxicitása három hatásból adódik (Kovács 2010):

- Sejtlégzést gátolva ATP hiány keletkezik
- A t-RNS-szintetáz gátlása fehérjehiányhoz vezet
- Nő a lipidperoxidáció

E három hatás ismeretében elmondható még, hogy a tumor képző hatást és a DNS-hez való kapcsolódásnak az összefüggését nem sikerült egyértelműen bizonyítani.



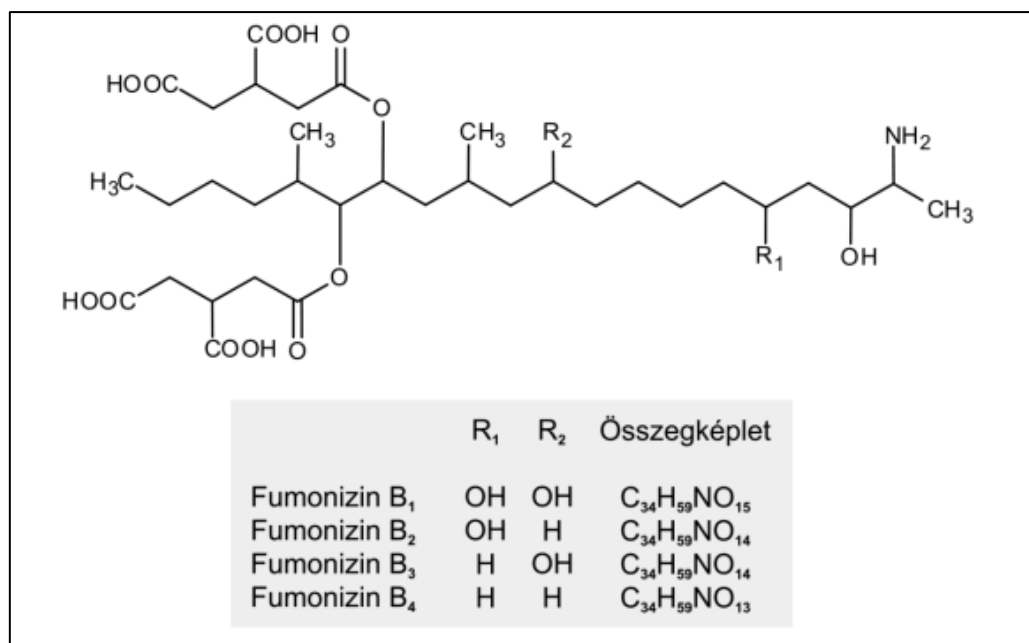
3. Ábra. az Ochratoxin kémiai szerkezete (Varga & mts. 214)

2.4.3. Fumonizin

A fumonizinek 1988 óta ismert mikotoxinok, amelyeket négy csoportba (A, B, C, P) sorolnak. Toxikológiai szempontból a B-csoportba tartozó fumonizinek (FB1, FB2, FB3, FB4) a legtoxikusabbak (4. Ábra). A *Fusarium verticillioides*, amely a kukorica kórokozója, a legfontosabb fumonizin-termelő penészgomba. A *F. verticillioides* tiszta rizstenyészetekben képződő fumonizinek 70-80%-a FB1 (Szécsi & mts 2019). Az FB₁ különböző állatfajokban eltérő kórképpel tűnik fel, lovakban encephalomaláciát okoz, sertésben tüdővizenyőt, patkányban máj és vese elfajulást és akár rákot is okozhat. Ezen felül a fumonizinek képesek hatni a bélműködésre, gátolják a nyersfehérje és az aminosavak látszólagos ileális

emészthetőségét hízó sertésekben akár rövid (7 nap) vagy hosszabb távú (21 nap) fogyasztás esetében is. Rákkeltő hatása alapján az IARC besorolása szerint potenciálisan rákkeltő hatású (2B) (Kovács 2010; Zeebone et. al. 2022).

A *Fusarium* fajok és az *A. niger* genomjában a fumonizinek bioszintéziséért felelős mintegy 15 gén egy 42 kb méretű génklaszterben helyezkedik el. A bioszintézis kulcsenzimje egy poliketid szintáz. A fumonizin bioszintézis kezdeti lépéseként egy lineáris 18 C-atomos lánc jön létre, melyhez egy oxoamin oxidáz kapcsol további 2 C-atomot és egy amino csoportot, melyek alaninból származnak. A karbonilcsoport redukciója és oxigenáció után két propán- 1,2,3-trikarboxilsav kapcsolódik észterkötéssel a molekulához. A fumonizinek szerkezetileg rokon vegyületei az *Alternaria* fajok által termelt fitotoxikus toxinok (*Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*), és az *A. fumigatus* szfingofungin nevű metabolitja.



4. Ábra A fumonizinek kémiai szerkezete (Varga & mts 2014)

A fumonizin B₁ eddig leírt és azonosított metabolitjai (Kovács 2010):

- Aminopentol, az FB₁ mindkét trikarboxilsav csoportja hidrolizálódik
- Részben hidrolizált FB₁, az eredeti molekula gerincét alkotó 14-es vagy 15-ös szénatom oldal láncát képező TCA csoport egyike hidrolizálódik
- N-palmitoil-AP₁, a szfingolipid bioszintézis folyamatában az AP₁ molekula amino csoportjához palmitinsav kapcsolódik

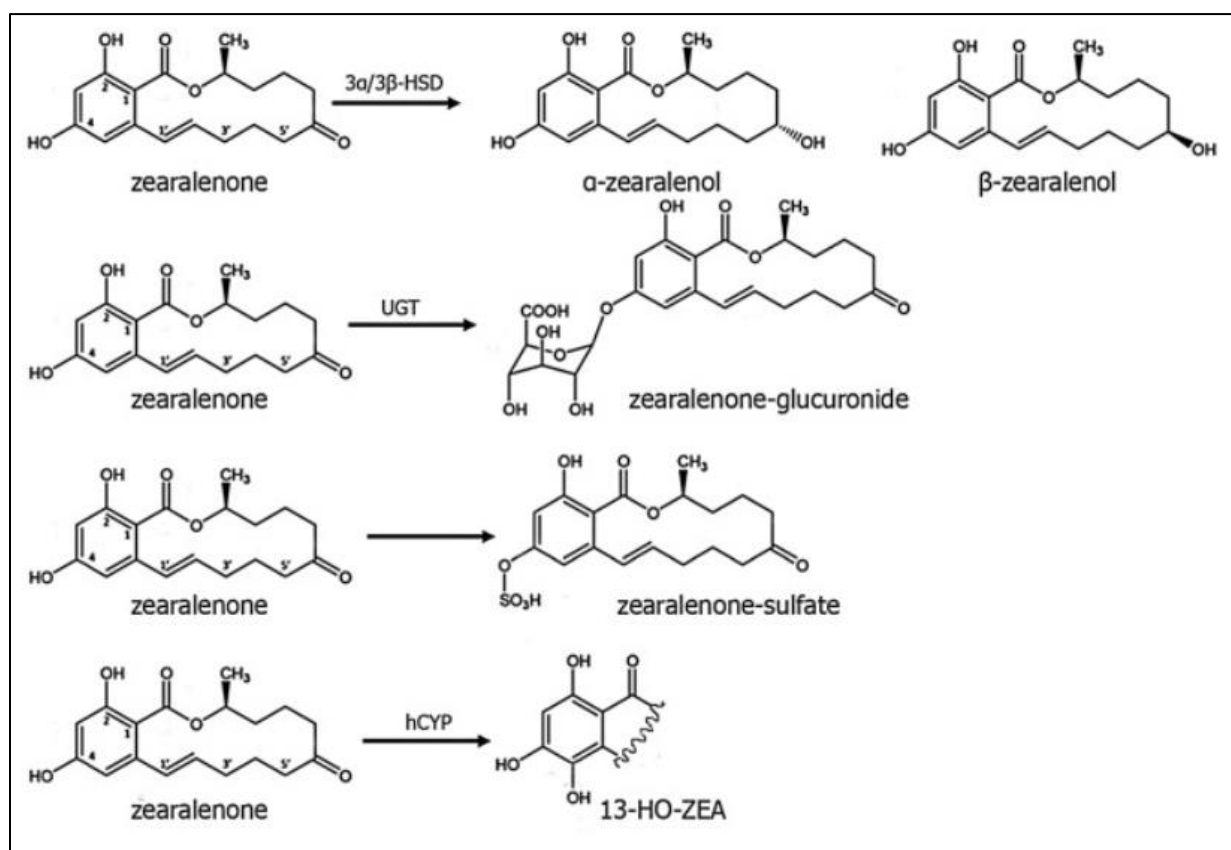
2.4.4. Zearalenon

A zearalenont (ZEA), korábbi nevén F2-toxint, a vulvovaginitis néven ismert, sertések szaporodási rendellenességének okozójaként fedezték fel. Számos *Fusarium* faj termel zearalenont, ezek a *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. sambucinum*, *F. equiseti*, *F. scirpi*, *F. sporotrichioides* és *F. oxysporum* fajok. Amerika, Európa és Ázsia mérsékelt égövi vidékein az egyik leggyakoribb *Fusarium* mikotoxin. Leggyakrabban a kukoricán találkozunk vele, de más gabonaféléket és növényi termékeket is szennyez. A kukoricában és a gabonafélékben több mg/kg koncentrációban is előfordulhat. A toxin képződés elsősorban a termőföldeken történik, de betakarítás után is folytatódhat, ha a tárolás és a termés szárítása nem szakszerű. A gabonafélék felületi szennyeződésekként tartjuk számon, de a malomipari feldolgozása után a korpába kerülhet. A ZEA stabil vegyület mind a tárolás/örlés, mind a feldolgozás/főzés során. Magas hőmérsékleten nem bomlik le. (Babinszky & Hallas 2019; Varga & mts 2014; Yazar & Omurtag 2008).

A zearalenon az ösztrogén nemihormonokkal (pl. 17-béta ösztradiollal) mutat szerkezeti (5. ábra) hasonlóságot, képes az ösztrogén receptorokhoz kapcsolódni, és felborítani a nemi hormonok egyensúlyát. A zearalenon a méh RNS-polimeráz enzimjeit is stimulálja. A ZEA szerkezete a szteroidok számos jellemzőjére hasonlít, és agonistaként kötődik az ösztrogén receptorhoz. A ZEA α -ZOL-lá és β -ZOL-lá történő átalakulása hasonlóságot mutat a szteroid-anyagcsere folyamataival, ahol a HSD-k kulcsszerepet játszanak a különböző szteroid hormonok, köztük az E2 és a tesztoszteron szintézisében. 3A zearalenonra kísérleti és természetes körülmények között is a sertések a legérzékenyebbek, méhszájgyulladást okozhat, valamint endometrium hiperpláziát. Öt mg/nap dózisban már az ötödik napon megjelennek az ösztrogén hatásra utaló tünetek, majd heresorvadás, vetélés, petefészek sorvadás, tejmirigyek növekedése léphet fel (a toxin hatására prolaktin termelődik). Malacoknál izomfejlődési zavar (izom hypoplasia), lábszétcsúszás, “ösztrogén szindróma” (vörös péra, duzzadt csecsbimbó), valamint a parenchimás szervek (kiemelten a máj) károsodása léphet fel. Szarvasmarhákban termékeltenséget, vetélést, véres ivarzást okozhat, és a bikák spermaminősége is romlik (Varga & mts 2014; Minervini, & Dell’Aquila 2008).

A ZEA egyik endokrinológiai működést befolyásoló hatása összefüggésbe hozható az agyalapi mirigy hormontermelésének zavarásával. A ZEA és metabolitjai egyaránt módosíthatják az LH-termelést a szarvasmarha agyalapi mirigyének sejteiben. Azt feltételezik, hogy ezt a hatást az

ösztadiol receptor GPR30 modulációja okozhatja. A ZEA prepubertáskori expozíciója a hipotalamusz kisszeptin-GPR54-GnRH jelátviteli útvonalának idő előtti aktiválódását idézheti elő, ami patkányoknál a hüvelynyílás idő előtti megnyílásához (vaginal opening), és a méh perifériás megnagyobbodásához vezet (Kriszt et al, 2015). A második hatás, amely a legjobban dokumentált, az ivarmirigy működéséhez kapcsolódik. Kutatások kimutatták, hogy a ZEA egerekben, sertésekben és tehenekben egyaránt modulálja a herék és a petefészkek aktivitását. Hím egerekben a ZEA fokozza az apoptózist a sejtciklus szabályozásának és a mitokondrium által közvetített jelátviteli útvonal modulációjával, a Sertoli-sejtek citoszkeletonjának és magjának megzavarásával, az oxidatív stressz indukálása Leydig sejtekben és az antioxidáns és gyulladásos egyensúly modulálásával (Kowalska et.al. 2016).



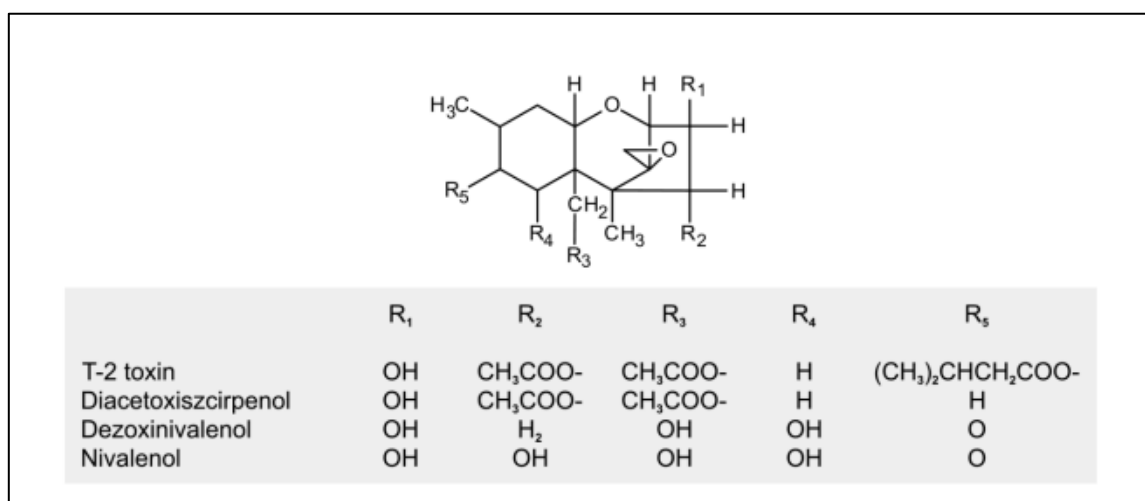
5. Ábra A zearalenon és metabolitjainak kémiai szerkezetei (Varga & mts 2014)

Az expozíció- és veszélyértékelésen alapuló kockázatértékelésnek figyelembe kell vennie a ZEA-transzfert a szervezetben, és értékelnie kell az összes szennyeződési forrást. Bár a ZEA mindenütt jelen van és mérgező, globálisan csak akkor jelent potenciális veszélyt az állatok és az emberi egészségre, ha nagy mennyiségben, vagy hosszú expozíciós időn keresztül szívódik

fel. Egereken végzett hosszú távú karcinogenitási vizsgálatok során hepatocelluláris adenómákat és hipofízis daganatokat figyeltek meg. Ezeket a daganatokat azonban csak a hormonális hatást kiváltó koncentrációknál jóval meghaladó dózisok mellett figyelték meg, azaz 8-9 mg/testtömeg-kg vagy annál magasabb szinten (Zinedin et. al. 2007).

2.4.5. Deoxinivalenol (Vomitoxin)

A deoxinivalenol (DON, vomitoxin), egy trichotecén, világszerte elterjedt az élelmiszer- és takarmánytermelésre használt növényekben. Bár a DON az egyik legkevésbé akut mérgező trichotecén, fontos élelmiszer-biztonsági kérdésként kell kezelni, mivel a gabona nagyon gyakori szennyezője. Sejtszinten a fő toxikus hatása a fehérjeszintézis gátlása a riboszómához való kötődésen keresztül. Az állatokban, a mérsékelt vagy alacsony toxinbevitel számos, még rosszul meghatározott hatást okozhat a csökkent teljesítőképességgel és az immunrendszer működésével kapcsolatban. Alacsony étrendi koncentrációknál a fő nyilvánvaló hatás az élelmiszerfogyasztás csökkenése (anorexia), míg a nagyobb dózisok hányást váltanak ki (Rotter 1996). Kémiai szerkezetét (6. ábra) tekintve szeszkviterpén típusú vegyület, jellemző rá a 12,13-epoxid gyűrű és a 9,10 telítetlen kettőskötés. A DON egy B típusú trichotecén vázas mikotoxin, mely jellegzetes UV abszorpciót mutat 220 nm körüli hullámhossznál (a 8. C-atomon kettőskötés van) (Varga & mts 2014).



6. Ábra A tetraciklikus trichotecének kémiai szerkezete (Varga & mts. 214)

Young és munkatársai (1983) négy kísérletet végeztek fiatal sertéseken, hogy értékeljék a vomitoxinnal szennyezett kukorica étrendi szintjének a teljesítményre és a patológiára gyakorolt hatását. A hozzávetőleg 20 ppm vomitoxin étrendi szint hányást, 12 ppm vomitoxin szinte teljes takarmánymegtagadást, 1,3 ppm pedig jelentős mértékben csökkentette a

takarmányfelvételt és a gyarapodás mértékét. Nem figyeltek meg vomitoxinnak tulajdonítható elváltozásokat azoknál a sertéseknél, amelyeket legfeljebb 43 ppm étrendi vomitoxinnal etettek 21 napon keresztül. Vomitoxinnal etetett sertéseknél a vérszérum különböző jellemzőiben változást figyeltek meg, azonban a hatásokat nem lehetett elkülöníteni azoktól, amelyek az alacsony táplálékfelvételtől származhatnak.

Patkányokon végzett kísérletek alapján a DON módosítja a nyelést, és zavarja a táplálékfelvétel szabályozására szolgáló központi idegrendszeri hálózatokat. A DON rövid késleltetéssel és dóziszfüggő módon erősen gátolja a nyelési reflexet. Ezen túlmenően c-Fos festéssel erős neuronális aktivációt figyeltek meg a központi nyelési mintázatot tartalmazó magban a szoliter traktusban és a DON intravénás injekció után a postrema területen (Abysique et. al. 2015). Az immunfunkció károsodása a DON legfontosabb toxikus hatása, amely a dózistól, az expozíció időtartamától és időtartamától függően immunstimulációt vagy immunszuppressziót eredményezhet. A jelenlegi kutatási eredmények azt mutatják, hogy a DON-nak kifejezett immunológiai hatásai lehetnek csirkékben. A brojlerek 10 mg DON/ttkg takarmányozása csökkentette a TNF- α plazmakoncentrációját (Ghareeb et. al. 2013).

2.5. Hazai szarvasfélék táplálkozásbiológiája

2.5.1. Gímszarvas (*Cervus elaphus*)

A gímszarvas legelő típusú faj, magasabb rost tartalmú táplálék növényeket igényel. Napi 8-10 órát tölt táplálék felvétellel, és nagyjából ennek az időnek a fele alatt kérődzi azt meg. A táplálék szerzés időszaka és annak hossza az évszak, a táplálékbőség és a zavartság függvénye (Faragó 2015). A táplálkozásában a fás szárú növényekből származó táplálék körülbelül 70-80%-ot tesz ki, de nyár végére, egy rövid időszakra a termesztett növények aránya eléri a 40%-ot (Heltay et al. 2014). A táplálék meghatározó növényei a cserjeszintben lévő fás szárú növények, 2 méteren belüli magasságban. Tápláléka részét képezhetik a fenyőtűk, akác, bodza, fagyal, som, juhar, tölgy, szeder, kecskefűz. Táplálkozásában még nagy szerepe van a fák magtermésének is, mint a bükkmakk és tölgymakk. Termesztett növényeket is kedvel: gabonafélék, pillangós zöldtakarmányok, lédús takarmányok, gyümölcsök (Heltay et al. 2014).

A gímszarvas – az őzzel ellentétben – az úgynevezett átmeneti táplálkozási típusúak közé tartozik, azaz a legelőtípusú (szarvasmarha, juh, kecske) és a koncentrátum válogató (őz) növényevők közt helyezkedik el. Mind a négy évszakban a táplálékuk nagy részét fásszárú

növények alkotják (68-85% közt), kétszikűek csak a táplálék 7 és 23%-át alkotják, míg az egyszikűek csak 1 és 14%-át alkotják a tápláléknak. Fásszárúak közül az akácot (*Robinia pseudoacacia*) és a bodzát (*Sambucus nigra*) preferálják, kétszikűekből a lucernát (*Medicago sativa*) és a fekete pesztercét (*Ballota nigra*) (Mátrai és Szemethy 2000). Skócia telepített erdeiben megfigyelték, hogy a gímszarvasok nyáron főleg fűfélékkel, télen pedig füvek, sások, szittyók és cserjék keverékével táplálkoznak (Latham et al. 2006). Csehországban ártéri területen a lombhullató fák hajtásai- és levelei voltak az elsődleges táplálékuk az egész év során, míg a fűfélék a táplálék negyedét sem tették ki. Nyár végén, ősszel megnövekedett a mezőgazdasági területeken fogyasztott növények aránya, a gabonafélék aránya a táplálék 11-18%-át adta (Prokesová, 2004).

2.5.2. Dámszarvas (*Dama Dama*)

Nagyvad fajaink közül az egyik legigénytelenebb a táplálkozását figyelembevéve. Legszívesebben erdei fák és cserjék lombját, rügyeit-hajtásait, egyszikű és kétszikű növények leveleit, szárait és virágait fogyasztja. Nem nyúl viszont a bálványfához és a kutyabengéhez, a kenderhez és a lenhez, viszont kedveli a többi termesztett növényt, a zöldségeket. Erdőben a dám leggyakoribb táplálkozási károkozása a vezérhajtások leharapása, a hántás, a makkvetés kikaparása (Faragó, 2015). A dám táplálékigénye Magyarországon hasonló, mint a gímszarvasé. Télen, a táplálék szűkössége miatt a lágyabb kérgű fákat hántják. A táplálék minőségét illetően kevésbé válogatós, így vadaskertben körülkerítve is jobban él, mint a gímszarvas vagy az erre még érzékenyebb őz. Jó tulajdonsága az is, hogy a táplálékkeresésben, a táplálkozási lehetőségek felismerésében és kihasználásában rendkívül találékony. A dámvad tápláléka erdőn-mezőn élő minden erdei fa és cserje lombja, rügye, a sokféle lágyszárú növény levele, virága és szára. Van azonban olyan növény, amelyiket nem nagyon preferál, mint például a bálványfa, a kutyabenge és a gyalogakác. Természetes táplálékának 60-80%-a cserjékből kerül ki, ha ilyen egyáltalán rendelkezésére áll. Megeszi a gyümölcsöt, fakérget és a gombát is. A dám az útszéli rövidfűvű, nagy tápértékű gyepeken és vadföldek pillangós vetésein is szeret legelni (Náhlik és Sándor 2008). A Gödöllői dombvidéken az őszi időszakban végzett táplálkozás vizsgálatok azt mutatták, hogy a dám (n=20) legfontosabb táplálék növényei ebben az időszakban a fásszárúak közül a fenyőfélék (*Pinus* spp.) 20%-ban, az akác (*Robinia pseudoacacia*) 15%-ban, lágyszárúak közül a lucerna (*Medicago sativa*) 13%-ban, egyéb kétszikűeket 18%-ban, egyszikűeket 15%-ban fogyasztottak. Mellette szedret (*Rubus* ssp.) 11%-ban, egyéb fásszárút 6%-ban, tölgyet (*Quercus* spp.) és *Prunus* fajokat 1-1%-ban fogyasztottak a vizsgált egyedek (Mátrai 1994).

Borkowski és Obidzinski (2003) Lengyelországban két területen október és január közt (2. táblázat) vizsgálták gyomortartalom alapján a dámszarvasok táplálkozását. Az egyik területen volt kiegészítő takarmányozás, a másik területen nem. Összesen 69 gyomortartalmat vizsgáltak meg. Egyszikű füveket 43-46%-ban fogyasztottak (56% november, 30% január), lombhullatók leveleit, erdei fenyő tűjét, és lágyszárú kétszikűeket 10-20%-ban. Ebben a négy kategóriában összesen 73% volt jelen a gyomor tartalmakban. Hajtásokat, kérgeket kis mennyiségben találtak (a területen a vadkár nem volt jellemző). A lombleveleket elsősorban az avarból vehették fel. A kiegészítő takarmányok a táplálék 21%-át adták (maximum) januárban, ezenfelül a többi vizsgált hónapban 10% vagy az alatti érték volt.

2.5.3. Őz (*Capreolus capreolus*)

Az őz táplálkozását illetően koncentrátum válogató, vagyis a bendőjéből hiányoznak azok a mikroszervezetek, amelyek a nehezen emészthető, magas rosttartalmú növények megemésztését elősegítenék. Főleg a könnyen emészthető és magas növényeket, növényi részeket fogyasztják (pillangósok, rügyek, fiatal hajtások, virágok). A válogatásra kis szájméretük miatt alkalmasak. A téli táplálék hiányos időszakban ezek nagyrésze, vagy teljes egésze hiányzik, ezért a koncentrátum válogatás csak a táplálékhiány idején lehetséges számukra. Bár az őzek táplálkozásában viszonylag sok növény szerepel, mégis a táplálékukat nagyrészt csak 2-3 növény alkotja (Mátrai, 2000). Norvégiai vizsgálat során az egyedülileg preferált, és egyben legtöbbet fogyasztott növények a feketeáfonya (36,8%), berkenye (34,4%) és a fán élő zuzmók (17,4%) voltak, a többi növényt csak nyomokban fogyasztották az állatok. Az őzek a táplálkozóhelyeiket nem véletlenszerűen választották ki a megfigyelt területeken, ez akkor nyilvánvaló, ha a magasságzinteket is figyelembe vesszük. A tél folyamán egyre lejjebb költöztek az állatok, valamint a tél előrehaladtával beköltöztek a sűrű erdőkbe, kerülték a tisztásokat és a nyílt területeket (Mysterud et al. 1997).

2.6. Az ITS (internal transcribed spacer) szekvenálás

Az ITS (internal transcribed spacer) szekvenálást és a DNS vonalkódolást egyre inkább alkalmazzák a biológiai sokféleség katalógizálására és osztályozására. A nagy áteresztőképességű szekvenálási technikák megjelenésével megvalósíthatóvá vált a gombák diverzitásának tanulmányozása a különböző környezeti mintákból származó hatalmas számú szekvencia kinyerésére és a gombák diverzitásának egyidejű elemzésére (Yang et. al. 2018). Bár az egyik leggyakrabban szekvenált régió az ITS jól azonosítható a termőtestekből származó szekvenciák becslésére, de a feltételezett gombák <1%-ának érhető el fajszenzen a genomja.

Ennek következtében a természetből szerzett (nem labor körülmények közt kitenyésztett) mintáknak a hova tartozását nem tudjuk meghatározni ezzel a technológiával, vagy csak genus szinten tudjuk azokat azonosítani (Reyberg et. al. 2009). 2011-ben 228 *Aspergillus niger* törzset vizsgáltak egy mikotoxin vizsgálatban, és a 228 törzsből összesen csak háromnak volt a teljes genomja szekvenálva (ATCC 1015, NRRL 3 és CBS 513.88) (Frisvad et.al. 2011)

2.7. Sabouraud agar

A Sabouraud agar az egyik legrégebbi, és leggyakrabban használt táptalaj gombák izolálására, és tenyésztésére. Szelektíven izolálja a gombákat a környezeti mintákból, például a levegőből és a talajból, tiszta gombakultúrákat tart fenn, és gombákat növeszt a különböző fajok, különösen a dermatofiták szín és megjelenés alapján történő megkülönböztetésére és azonosítására (Acharya & Hare 2022). A táptalajon tenyésztett penészek határozásánál figyelembe kell venni a telep felépítését, nagyságát, színét, barázdáltságát, váladék cseppek megjelenését és színét, és a hátoldal színeződését. Sokszor ezek a tényezők vetekszenek fontosságban a mikroszkopikus részletekkel (Simon 2001).

3.Anyag és módszertan

3.1. Mikotoxin mérés

Mintáink a 2020/21-es vadászati évben elejtett szarvasokból (dámszarvas, gímszarvas) származtak. Az állatok gyomortartalmából, májából, veséjéből, izmából, vérből és bélsarából a megfelelő extrakció elvégzése után aflatoxin, ochratoxin-A, DON, zearalenon, T2/HT2, progeszteron, tesztoszteron, ösztrogén szintet mértünk ELISA teszt segítségével. Ezen felül az ország több pontjáról gyűjtött tölgy makkokat (kocsányos, kocsánytalan tölgy, vörös tölgy, csertölgy) is megvizsgáltam toxin terheltségre ELISA segítségével. Továbbá szénákból, mint természetes táplálék kiegészítő takarmányból zearalenon szintet mértem ELISA teszt segítségével.

A szarvasokból történő mintavételezést Lakatos István, a Kapos-Tolnai tájegységi fővadász végezte egyéni vadászatok során. Elejtést követően 60 perc áll rendelkezésre (post mortem állapotban) a különböző biológiai minták szakszerű begyűjtésére. A bendőtartalom, máj-, izom- és ürülék minták légmentesen lezárható műanyag zacskóba lettek téve, a vér 2 ml-es Eppendorf csövekbe lett gyűjtve. A vérminták sejtes-, és plazma állományát centrifuga segítségével választották szét. A vizsgálatok során a vérplazma került felhasználásra. A mintavételt követően minden mintát -20 °C-on tároltak. A minták feldolgozását és a mikrobiológiai vizsgálatokat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Genetika és Biotechnológia Intézet, Szaporodásbiológiai és Toxikológiai csoport laboratóriumában végeztük el. A 004-09/2018 számú MÁB engedélyre hivatkozva, speciális állatkísérleti engedélyre a munkám során elvégzett vizsgálatokhoz nem volt szükség, mert nem minősül állatkísérletnek (1.kép).

3.1.1. Minták előkészítése

A kiolvasztott máj, izom mintákat késes homogenizátor segítségével kisebb frakció méretre daráltuk és ezt követően 50 ml-es csövekbe helyeztük, majd a mérésekhez 2 ml-es centrifuga csövekbe szétmértünk 0,5-0,5 grammokat. A bélsár mintákat 1-1 grammos mintákra osztottuk szét egységesen, 15 ml-es csövekbe. A bendőtartalmat több szintes szita soron át szitáltuk, és válogattuk szét. A megfelelő mennyiségekre osztott mintákat a szükséges vizsgálat elvégzéséhez a továbbiakban -20 °C-on tároltuk. A vérminták nem igényeltek további előkészítést a vizsgálatokhoz

3.1.2. Immunoassay vizsgálatok

A mikotoxinok mennyiségének meghatározásához ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) alapú kompetitív immunoassay méréseket végeztünk, a piacon elérhető kitek felhasználásával. A máj, izom, bélsár és bendőtartalomnál különböző oldószerekkel (és hígításokkal) extraktumokat készítettünk. Miután a 0,5 gramm mintákhoz 1 ml oldószert adagoltunk 2x 20 másodpercig homogenizáltuk, majd 15 percig síkrázógépen 250 rpm-en ráztuk. Rázás után a mintákat centrifugáltuk 15 percig 4°C-on, 8000 g-n. A keletkezett felülúszót (mérendő extraktum) átpipettáztuk 1,5 ml-es Eppendorf csövekbe.

A bélsár mintákból is szerves oldószerral (70%-os metanol) extraktumokat készítettünk. A mintákat az oldószer hozzáadása után 1 percig vortexeltük, hogy az oldat megfelelően homogén legyen, majd síkrázógépen 250 rpm-en ráztuk 20 percig. Rázás után a mintákat centrifugáltuk 15 percig, 4°C-on, 6000 g-n. Az így keletkezett felső frakciót (mérendő extraktum) átpipettáztuk 1,5 ml-es Eppendorf csövekbe.

A vérek előkészítése során csak 10 percig 4°C-on, 8000 g-n voltak centrifugálva a minták, majd a felülúszót (mérendő extraktum) átpipettáztuk 1,5 ml-es Eppendorf csövekbe.

A makk-, és a széna minták esetében 5-5 gramm darált mintából 100%-os metanol és acetonitril segítségével oldatot készítettünk, majd síkrázógépen 250 rpm-en ráztuk 20 percig. Rázás után leszűrtük szűrőpapír segítségével. Bizonyos esetekben (T2/HT2 mérés) az extraktumokat bepároltuk a makkok kvercetin, szaponin, tannin tartalma miatt.

Az ELISA vizsgálatok során az abszorbancia meghatározás minden esetben 450 nm-en történt Thermo Labsystems Multiskan EX készülék segítségével.

3.1.3. Zearalenon mérés

A minták zearalenon (ZEA) tartalmának méréséhez Ridascreen (R-Biopharm) kitéket használtunk. Az izom, máj és bendő tartalom extraktumait 5x-ös (50 µl minta, 250 µl hígító puffer), makk és széna esetében 4x-es hígítással (50 µl minta, 200 µl hígító puffer), a bélsár minták extraktumait 10x-es (50 µl minta, 500 µl hígító puffer) hígítással készítettük el egy 1,5 ml-es Eppendorf csőben, majd vortexeltük. A 96-lyukú microtiter plate-re először a standard oldatokat vittük fel emelkedő koncentrációban, a standard oldatok után a hígított mintákat vittük fel egyesével. Minden standard és minta esetében egységesen 50 µl mennyiséget használtunk és 2 párhuzamos mérést végeztünk. A mintákra ezután 8 csatornás pipettával 50 µl konjugátum oldatot vittünk fel, majd a plate-et lezártuk a kitéhez adott fóliával a párolgás

megakadályozása érdekében és becsomagoltuk, majd 2 órán át fénytől elzárva, 37 °C-on 150 rpm-en rázatva inkubáltuk.

Az inkubációs idő leteltével a plate-et átmostuk wellenként 250 µl desztillált vízzel. A mosási folyamat első lépéseként eltávolítottuk a plate-ről a benne lévő anyagokat majd 3-szor átmostuk. A mosást követően hozzáadtunk 50 µl szubsztrátot és 50 µl kromogént, melyet újabb 30 perc inkubáció követett szobahőmérsékleten, fénytől védve. Utolsó lépésként 100 µl stop folyadék hozzáadásával leállítottuk a reakciót.

3.1.4. Aflatoxin mérés

Az aflatoxin (Afla) méréséhez Toxi-Watch (Soft Flow Kft) Total Aflatoxin Elisa Kit-et használtunk. Az izom, máj és bendőtartalom extraktumait 5x-ös (50 µl minta, 250 µl hígító puffer), makk esetében 4x-es hígítással (50 µl minta, 200 µl hígító puffer), a bélsár mintákat extraktumait 10x-es (50 µl minta, 450 µl hígító puffer) hígítással készítettük el, majd vortexeltük. A 96-lyukú microtiter plate-re először a standard oldatokat vittük fel egyesével, emelkedő koncentrációban, a standard oldatok után a hígított mintákat vittük fel egyesével. minden standard és minta esetében egységesen 50 µl mennyiséget használtunk és 2 párhuzamos mérést végeztünk. A mintákra ezek után 8 csatornás pipettával először az AFLA-HRP konjugátumot, majd az anti-aflatoxin antitesteket vittük fel, mind a kettőből egységesen 50 µl mennyiséget. majd a plate-et a párolgás megakadályozásának érdekében lezártuk és becsomagoltuk, majd 30 percen át fénytől elzárva, 37 °C-on 150 rpm-en inkubáltuk.

Az inkubációs idő leteltével a plate-et átmostuk, wellenként 200 µl mosófolyadékkal. A mosást háromszor ismételtük. Mosást követően hozzáadtunk 50 µl szubsztrátot, melyet újabb 10 perc inkubáció követett szobahőmérsékleten, fénytől védve. Utolsó lépésként 50 µl stop folyadék hozzáadásával leállítottuk a reakciót.

3.1.5. Deoxynivalenol (DON) mérése

A deoxynivalenol (DON) méréséhez Toxi-Watch (Soft Flow Kft) Deoxynivalenol Elisa kiteket alkalmaztuk. Az izom, máj és bendőtartalom extraktumait 5x-ös (50 µl minta, 200 µl hígító puffer), makk esetében 4x-es hígítással (50 µl minta, 200 µl hígító puffer), a bélsár minták extraktumait 10x-es (50 µl minta, 4500 µl hígító puffer) hígításhígítással készítettük el, majd vortexeltük. A 96-lyukú microtier plate-re először a standard oldatokat vittük fel emelkedő koncentrációban, a standard oldatok után a hígított mintákat vittük fel egyesével. Minden standard és minta esetében egységesen 50 µl mennyiséget használtunk és 2 párhuzamos mérést

végeztünk. A mintákra ezek után 8 csatornás pipettával először a DON-HRP konjugátumot vittük fel, majd az anti-DON antitestet, mind a kettőből egységesen 50 µl mennyiséget. Majd a plate-et lezárva, fénytől védve 30 percen keresztül, 37 °C-on 150 rpm-en rázatva inkubáltuk. Az inkubációs idő leteltével a plate-et átmostuk wellenként 200 µl mosófolyadékkal. A mosást háromszor ismételtük. Mosást követően hozzáadtunk 50 µl szubsztrátot, mely után újabb 10 perc inkubáció következett szobahőmérsékleten, fénytől védve. Utolsó lépésként 50 µl stop folyadék hozzáadásával leállítottuk a reakciót.

3.1.6. Fumonizin B1 mérése

A fumonizin (FB1) méréséhez Ridascreen (R-Biopharm) kiteket használtunk. Az izom, máj és bendőtartalom extraktumait 5x-ös (50 µl minta, 250 µl hígító puffer), makk esetében 4x-es hígítással (50 µl minta, 200 µl hígító puffer), a bélsár minták extraktumait 10x-es (50 µl minta, 500 µl hígító puffer) hígítással készítettük el 1,5 ml-es Eppendorf csövekben, majd vortexeltük. A 96-lyukú microtiter plate-re az előzőekben leírtaknak megfelelően vittük fel a mintákat. A minták felvitelét követően először 50 µl fumonizin HRP-enzim konjugátumot, majd 50 µl anti-fumonizin antitest oldatot adtunk minden wellbe. Majd a plate-et lezártuk és becsomagoltuk, majd 30 percen át fénytől védve, 37 °C-on 150 rpm-en rázatva inkubáltuk.

Az inkubációs idő leteltével a plate-et átmostuk, wellenként 250 µl desztillált vízzel. A mosási folyamat első lépésként eltávolítottuk a plate-ről a benne lévő anyagokat majd háromszor átmostuk. A mosást követően hozzáadtunk 50 µl szubsztrátot, majd 30 perc inkubáció következett szobahőmérsékleten, fénytől védve. Utolsó lépésként 100 µl stop folyadék hozzáadásával leállítottuk a reakciót.

3.1.7. T2/HT2 mérés

A T2/HT2 méréshez Bio-Shield T-2/HT-2 kiteket használtunk. Makk esetében 4x-es hígítással dolgoztunk (50 µl minta, 150 µl hígító puffer). A 96-lyukú microtiter plate-re először a standard oldatokat vittük fel emelkedő koncentrációban, a standard oldatok után a hígított mintákat vittük fel egyesével. Minden standard és vizsgálandó minta esetében egységesen 200 µl mennyiséget használtunk és 2 párhuzamos mérést végeztünk. Ezután ráértünk mindegyik wellre 100 µl antitestet. Majd a plate-et lezártuk és becsomagoltuk, majd 10 percen át fénytől elzárva, szobahőmérsékleten inkubáltuk. Az inkubációs idő leteltével a plate-et átmostuk, wellenként 200 µl mosófolyadékkal. A mosást háromszor ismételtük. Mosást követően hozzáadtunk 100 µl szubsztrátot, mely után újabb 5 perc inkubáció következett

szobahőmérsékleten, fénytől védve. Utolsó lépésként 100 µl stop folyadék hozzáadásával leállítottuk a reakciót.

3.2. Hormonmérések

Progeszteron, tesztoszteron és 17-béta-ösztradiol méréséhez a német NovaTec ELISA kiteket használtunk. A 96-lyukú microtiter plate-re először a standard oldatokat vittük fel, emelkedő koncentrációban, a standard oldatok után a vérmintákat vittük fel (tesztoszteronnál és ösztrogénél 25-25 µl, progeszteronnál 20 µl). Minden standard és vizsgálandó minta esetében két párhuzamos mérést végeztünk. A mintákra ezután konjugátumot pipettáztunk (tesztoszteronnál és ösztrogénél 100-100 µl, progeszteronnál 200 µl/cella). Majd a plate-et, majd fénytől elzárva, 37 °C-on 150 rpm-en rázatva inkubáltuk (tesztoszteron és progeszteron esetében 1 óra, ösztrogén esetében 2 óra).

Az inkubációs idő leteltével a plate-et átmostuk 300 µl mosó oldattal. A mosási folyamat első lépéseként eltávolítottuk a plate-ről a benne lévő anyagokat, majd 3x átmostuk. A mosást követően hozzáadtunk 100 µl szubsztrátot, melyet inkubáció követett szobahőmérsékleten (tesztoszteron és progeszteron esetében 15 perc, ösztrogén esetében 30 perc), fénytől védve. Utolsó lépésként 100 µl stop folyadék hozzáadásával leállítottuk a reakciót.

3.3. Penészgomba fajok meghatározása

A tölgy makktermésein szemmel is észlelhető penészgombatelepekről történt a mintavételezés szike segítségével. A minták egyrészt ITS (internal transcribed spacer) szekvenálattuk a Biomi Kft-vel, másrészt Sabouraud Agar táptalajon történő tenyésztést követően és fenotipikus jellegek alapján történő azonosítással határoztam meg a makkterméseken előforduló gombafajokat. Az azonosításhoz Simon Tibor által szerkesztett Baktérium-, Alga-, Gomba-, Zuzmó- és Mohahatározó vettem segítségül.

3.4 Statisztikai feldolgozás

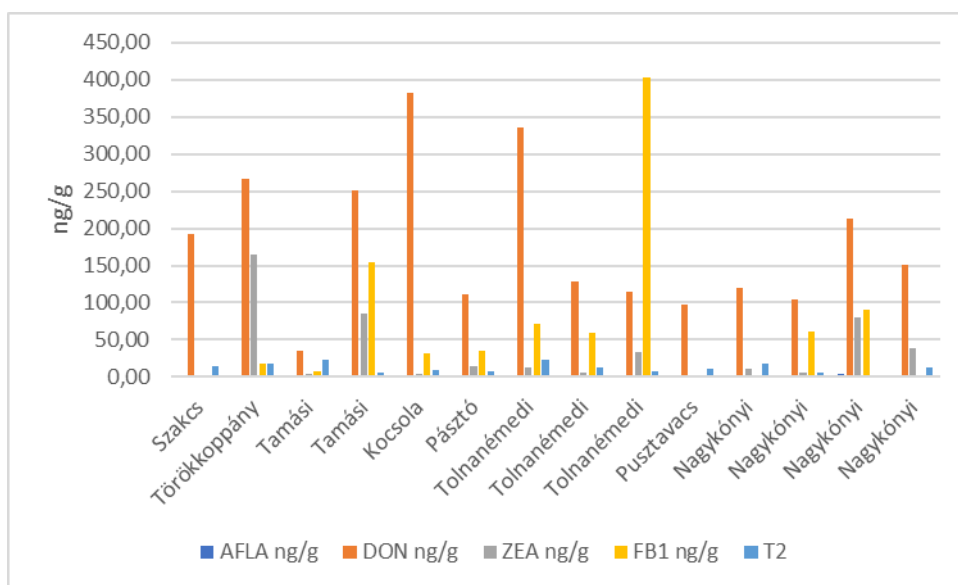
A kapott eredményeket egy excel táblázatban összesítettem és a GraphPad Instat 3. programban Kruskal-Wallis próbával össze hasonlítottam a különböző csoportokat.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. Mikotoxinok

4.1.1. Dámszarvasok bendőtartalmának mikotoxin analízise

A 14 megvizsgált egyed bendőtartalmának vizsgálatából azt az eredményt kaptuk, hogy táplálkozás szempontjából a szakirodalomnak megfelelő táplálékokat fogyasztottak elejtés előtt. Nagyrészt fűféléket, gabona-, és kukorica magvakat, kultúrnövényeket és különböző lombos fák leveleit, illetve kérgeit fogyasztották. Az elfogyasztott táplálékok mikotoxin tartalma átlagosnak mondható. Két esetben figyeltünk meg kimagasló értéket: egy Tolnanémediben elejtett bika bendőtartalma mutatott magas FB1 szintet, illetve egy kocsolai bika mintájában találtunk magas DON jelenlétet a többi helyszínről származó mintával összehasonlítva..(7. Ábra).

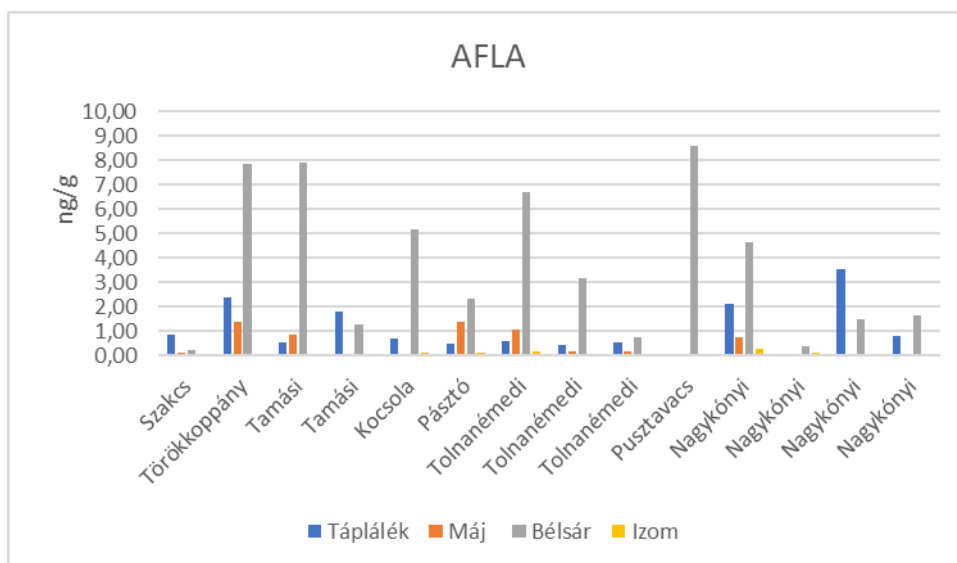


7. Ábra Az elfogyasztott táplálékok mikotoxin értékei

4.1.2. Aflatoxin mérés eredményei

Számos mintából sikerült kimutatni aflatoxin jelenlétet. Legmagasabb aflatoxin szintet az állatok bélsár mintáiból mértünk. Az elfogyasztott táplálék egyszer sem haladta meg az 20 ng/g-os értéket, ami humán szempontból meghatározott érték (legmagasabb 3,54 ng/g, Nagykónyi). Bár a legmagasabb értékeket a bélsár mintákból kaptuk, de ezek közül egyik sem sem haladta

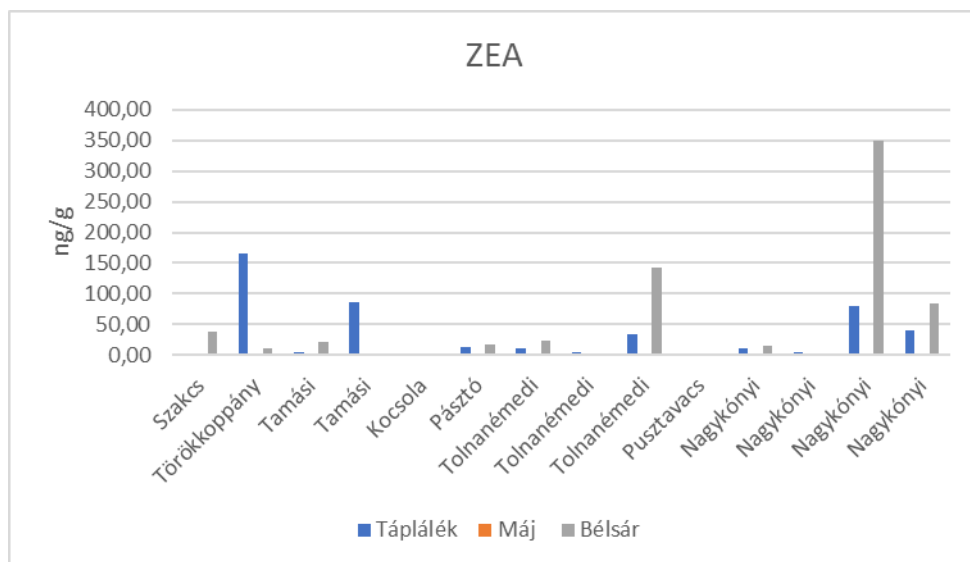
meg a 10 ng/g-os értéket (8. Ábra). Azon állatok esetében, melyek mikotoxin terhelésnek voltak kitéve - elfogyasztott táplálékuk, illetve bélsáruk tartalmazott aflatoxint-, az izom mintákban mégis csekély aflatoxin szintet mutattunk ki. Az izomból egy esetben sem kaptunk olyan eredményt, amikor a total aflatoxin meghaladta volna az 1 ng/g-os értéket. Statisztikailag szignifikáns különbségek az elfogyasztott táplálék és az izomban mért mennyiség közt ($P<0,05$), a máj és a bélsárban mért mennyiség közt ($P<0,001$), és a bélsár és az izom közt ($P<0,001$) volt jelentősen.



8. Ábra A vizsgált egyedek és elfogyasztott táplálékuk aflatoxin terheltsége

4.1.3. Zearalenon mérés eredményei

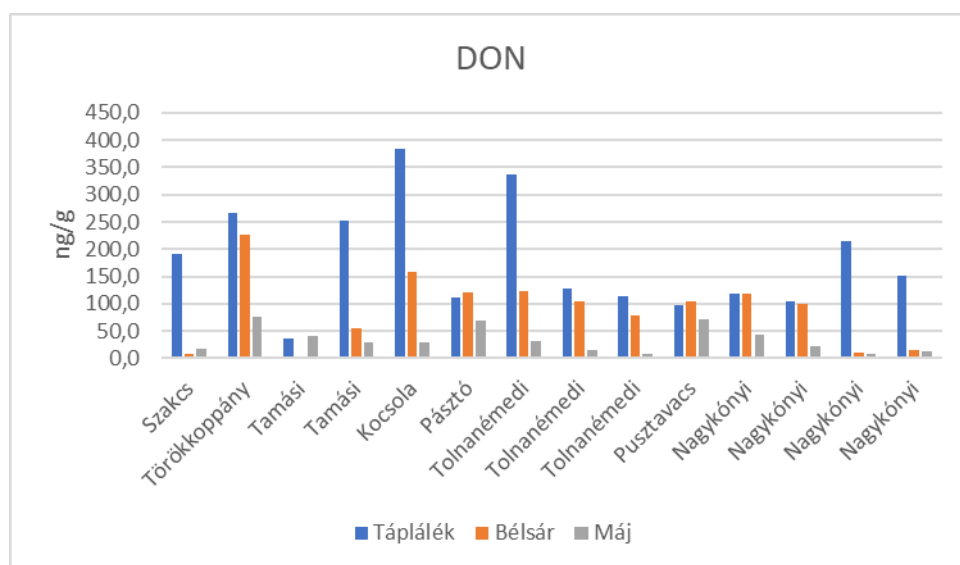
Zearalenon szint mérésnél az eredmények között nagy szórás figyelhető meg. Az állatok által elfogyasztott táplálékból, májból, illetve bélsárból történt zearalenon mérés. A táplálék tartalmazta a legtöbb zearalenont, ebben az esetben is három állatnál volt kimagasló a ZEA szint. (Törökkoppány, Tamási, Nagykónyi). Ezek az értékek a többi mintához képest magasnak mondhatók, de a klinikai tüneteket előidéző határértéket még nem érik el (2000 ng/g). Az egyedek májában elhanyagolható mennyiségben volt kimutatható zearalenon (9. Ábra) A vizsgált egyedek bélsarából nem mértünk jelentős mennyiségű zearalenon szintet, csak egy mintából mutattunk ki a többihez képest számottevő ZEA értéket. Ennek az állatnak a bendőtartalmában is jelen volt a zearalenon (Nagykónyi). Statisztikailag kimagasló különbség az elfogyasztott táplálék és a májak közt ($P<0,001$), és a májak és a bélsár közt ($P<0,001$) volt.



9. Ábra A vizsgált egyedek és elfogyasztott táplálékuk zearalenon terheltsége

4.1.4. Deoxynivalenol mérés eredményei

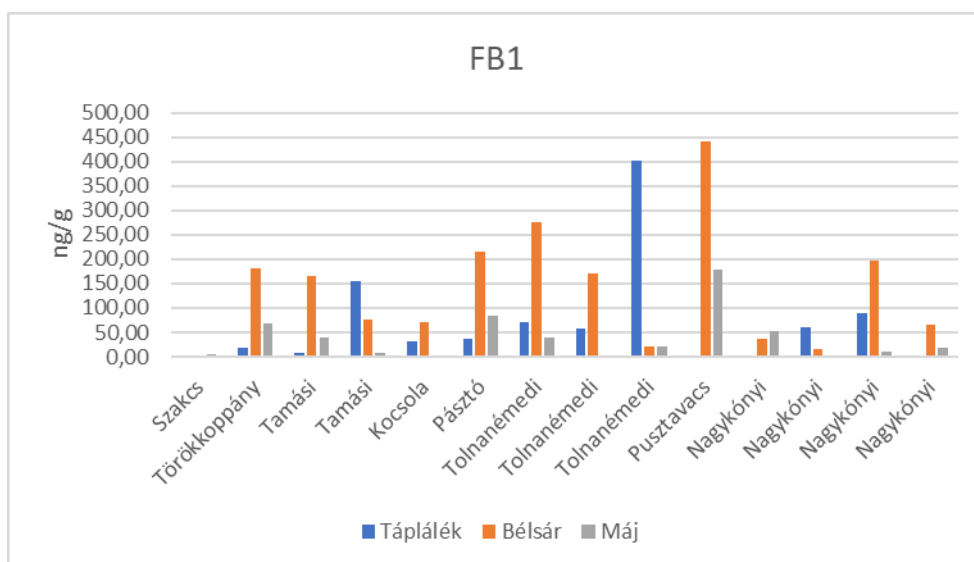
Deoxynivalenol esetében az elfogyasztott táplálékoknál a többi mikotoxinokhoz képest magasabb értékeket kaptunk (10. Ábra). A májából és a bélsarából is magasabb értékeket mértünk, mint más mikotoxinok esetében. Minden vizsgált egyedből sikerült kimutatni DON jelenlétét. A vizsgált állatoknál az elfogyasztott táplálék tartalmazta a legtöbb DON-t a bélsár- és a máj mintákhoz viszonyítva. Az elfogyasztott táplálék és a bélsár közti különbség statisztikailag kisebb volt ($P < 0,05$), mint az elfogyasztott táplálékok és a máj minták közt.



10. Ábra. A vizsgált egyedek és elfogyasztott táplálékuk Deoxynivalenol terheltsége

4.1.5. Fumonizin B1 mérés eredményei

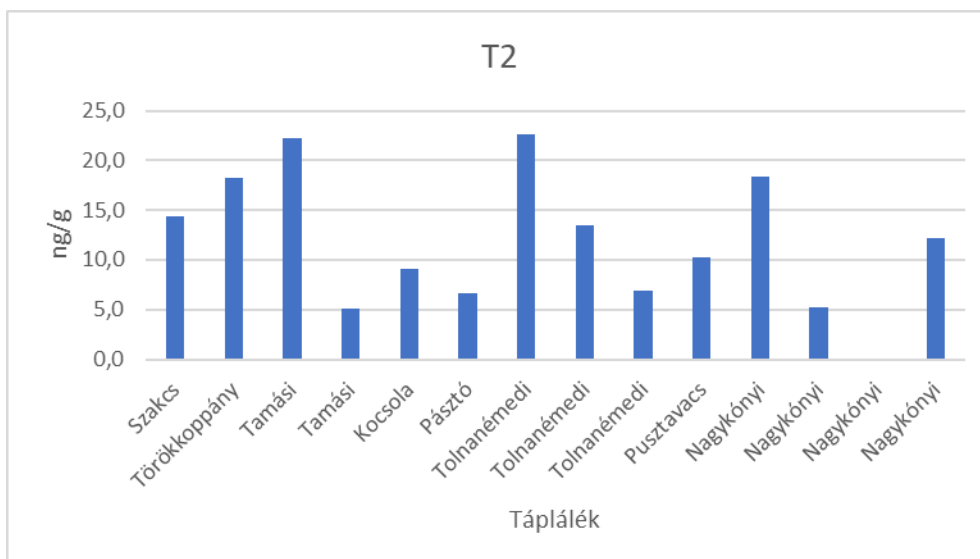
A vizsgált egyedek különböző mintáiban mért fumonizin szint nagy szórást mutatott. Az elfogyasztott táplálékok esetében az FB1 tartalom egy bikánál volt kimagasló (Tolnanémedi), és egy esetben magasabb (Tamási), mint a többi állatból származó minta (11. Ábra). A máj- és bélsár minták vizsgálata alapján elmondható, hogy csak egy bikánál (Pusztavacs) volt kimagaslóan nagy a mikotoxin terheltség, bár ennél az állatnál az elfogyasztott táplálékban nem mutattunk ki fumonizint. Statisztikailag csak a bélsarak és májak közt volt kimutatható szignifikáns különbség ($P < 0,05$).



11. Ábra. A vizsgált egyedek és elfogyasztott táplálékuk Fumonizin B1 terheltsége

4.1.6. T2-toxin mérés eredményei

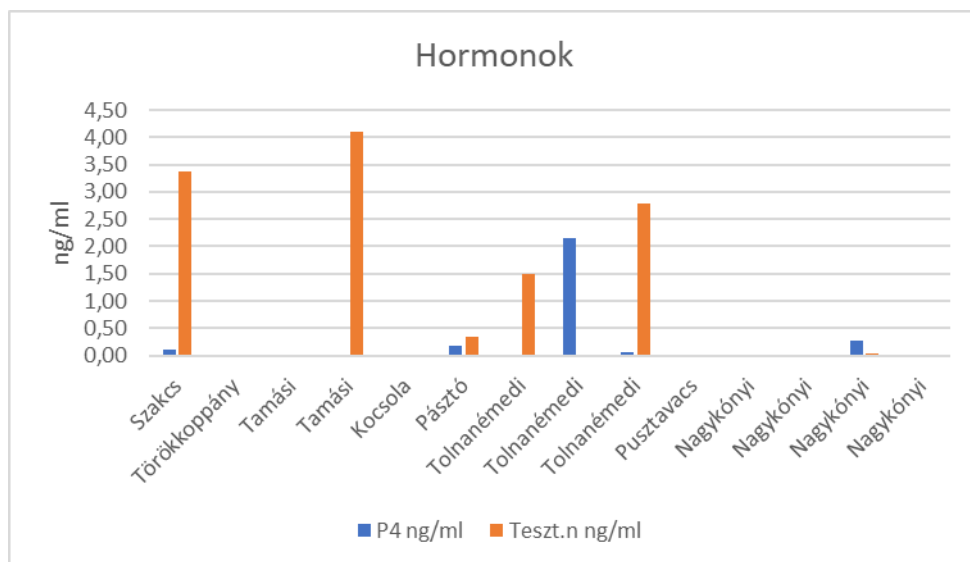
A T2 mikotoxint csak az elfogyasztott táplálékok esetében mértünk, mivel gyorsan (24 óra alatt) kiürül a májból, egyben a szervezetből is, így nem kaptunk volna pontos eredményeket. Egy mintát kivéve, szinte minden állat bendőtartalmából sikerült T2-toxint kimutatni. A vizsgált minták T2-toxin tartalma nagy szórást mutat az egyedek közt, de elmondható, hogy egy esetben sem haladta meg az elfogyasztott táplálék átlagos szintje a 25 ng/g-os értéket (12. Ábra).



12. Ábra A vizsgált egyedek bendőtartalmának T2-toxin szintje

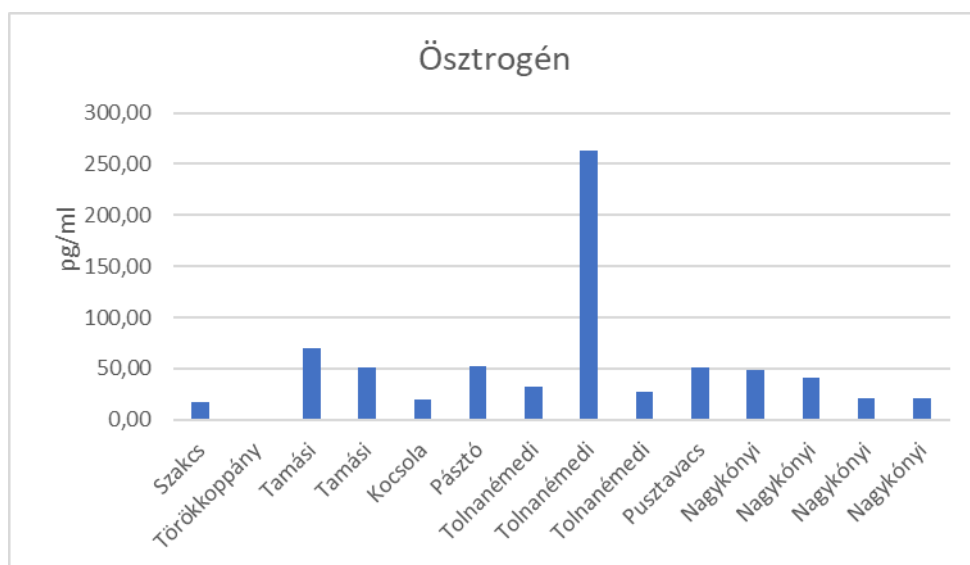
4.2. Hormonvizsgálatok eredménye

A szarvasbikák szaporodásbiológiai tulajdonságainak feltárására nemi hormonok progeszteron, tesztoszteron, 17-bét-ösztadiol szintjét vizsgáltuk vérmintákból. A vizsgált egyedek mintáiban sok esetben nem volt mérhető progeszteron (P4) szint, vagy csak alacsony, 0,1 és 0,3 ng/ml közti mennyiségben tudtunk kimutatni (13. Ábra). Egy esetben volt kimagasló P4 szint (Tolnanémedi), de ott is csak 2,16 ng/ml értéket mértünk. Ahogy a 13. ábrán látható, a tesztoszteron szint mérésnél is hasonló képet kaptunk. A 14 hím állatból, összesen 5 esetben tudtunk az analitikai érzékenység felett (0, 020 ng feletti) tesztoszteron szintet meghatározni, ezek közül három egyednél volt magasabb a mért érték a többihez képest Ennek az az oka, hogy szaporodási cikluson kívüli elejtésekből származtak az egyedek.



13. Ábra A vizsgált egyedek vérének tesztoszteron és progeszteron szintje

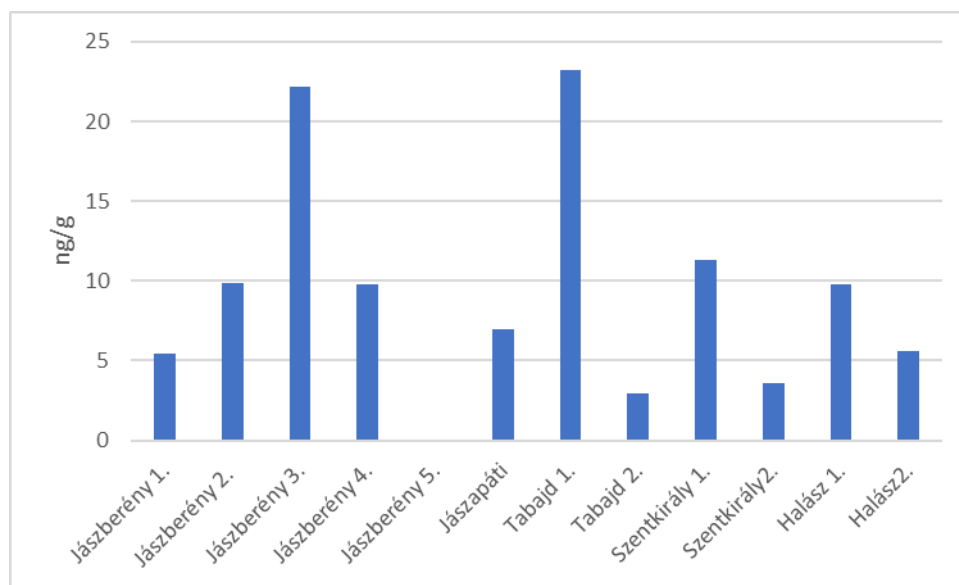
Ösztrogént egy állat kivételével minden mintából ki tudtunk mutatni. Egy egyednél mértünk kimagasló értéket (Tolnanémedi), a többi minta esetében átlagoasan 50 pg/ml érték mértünk átlagosan (14. Ábra). Annál az egyednél, amelyiknél 263 pg/ml értéket mértünk, annak az elfogyasztott táplálékában, májában és a bélsarában sem értünk magas zearalenon értékeket. A magas ösztrogén (a tesztoszteronhoz képest) a párzási időszakra is utalhat, mivel az ösztrogén a zsírszövetekben raktározódik, és a bikák ebben az időszakban a tartalékaikat élik fel, ilyenkor szabadulhat fel az ösztrogén.



14. Ábra A vizsgált egyedek vérének ösztrogén tartalma

4.3. Széna- és makk minták mikotoxin analízise

A 2022-ben gyűjtött széna mintákból zearalenon szintet határoztunk meg. A tavalyi évben számottevő aszály volt, az időjárás nem kedvezett a zearalenont is termelő *Fusarium* gombáknak, inkább az *Aspergillus* fajok számára volt előnyös. Minden vizsgált mintában volt kimutatható ZEA szint, de csak két esetben volt kiemelkedően magas a többi mintához viszonyítva (15. Ábra).



15. Ábra Széna minták zearalenon tartalma

A tölgyfa fajok makkterméseinek mikotoxin analízise alapján elmondható, hogy az ország különböző pontjairól származó minták mikotoxin tartalma nagy eltérést mutat. Az vizsgált makkokból többféle mikotoxint is ki tudtunk mutatni, melyek eltérő mennyiségben voltak jelen az egyes mintákban (3. Táblázat). Elsősorban a DON toxin, zearalenon és a T2-toxin volt nagyobb mennyiségben kimutatható a gyűjtött makk mintákból. Az aflatoxin mért mennyisége egy mintavételezett területen sem érte el az élelmezési határértéket (20 µg/kg). A növények gombafertőzöttségét és toxin terheltségét számos körülmény befolyásolja, mint például a különböző időjárási viszonyok. Megfigyelhető, hogy 2022-ben a nagy aszálynak köszönhetően magasabb volt az aflatoxin jelenléte a szántóföldi gabonákban, mint a csapadékosabb években. A minták toxintartalmára hatással van a gyűjtési időpont, tárolási módszer, emellett a vizsgálatok eredményét befolyásolhatja a gyűjtési módszer is. Esetünkben a talajra lehullott makkokat elsősorban *Fusarium* és *Trichoderma* fajok fogják megtámadni, így az általuk termelt toxinok jelenlétét várhatjuk

3.Táblázat A vizsgált makkok mikotoxin tartalma (ng/g)

	Aflatoxin	DON	Ochratoxin	Zearalenon	T2/HT2
Csőprönd	13,9104	264,24	10,47	67,57	32,125
Veszprém	15,7164	165,48	6,88	3,06	31,635
Tamási 1	10,206	47,04	11,72	303,61	131,135
Tamási 2.	17,7072	163,68	8,58	10,63	33,47
Gúth	12,8856	230,76	30,4	12,78	49,145
Pusztavacs 1.	6,296	273,6	na	382,706135	68,43
Pusztavacs 2.	2,748	505,4	na	22,93648	32,53
Pásztó	0	148,92	na	36,040	62,53
Szárliget	13,3	157,8	4,16	0,22694	80,85
Böhönye	na	na	19,26	0,98	53,92

4.4. Penészgombák fajmeghatározása

Az ITS szekvenálásból kapott eredmények alapján elsősorban *Penicillium* és *Talaromyces* mikroszkopikus gombafajok voltak jelen a makktermés egészéből nyert mintákon (4. Táblázat). A szekvenálás során talált *Penicillium* fajokat az általuk termelt toxikus anyagok jellegéből fakadóan antibiotikum gyártásra használják fel. Egy Tamásiból származó minta esetében vizsgáltunk épen maradt makktermést, és lyukas/sérült termést is. Eltérő eredményeket kaptunk: az ép makkokon *Talaromyces* fajokat találtunk, míg a sérült, rovarok által kilyukasztott makkokon *Penicillium* fertőzést figyeltünk meg.

Ahogy az 5. táblázatban is láthatjuk, a táptalajon kitenyészített penészek változatosabbak voltak, mint amit ITS szekvenálás során kapott eredmények mutattak. A kitenyészített penészek közül mikotoxin termelés tekintetében az *Aspergillus niger* volt jelentős, mivel ochratoxinokat és fumonizineket is termelhet. A mikotoxin szint mérés eredménye megerősíti az *Aspergillus niger* jelenlétét, hiszen a Veszprémből és Böhönyéből származó mintákból, sikerült ochratoxint is kimutatni. Az azonosított többi *Penicillium* faj nem termel olyan toxinokat melyekkel a hétköznapiakban is foglalkoznánk.

Több *Penicillium* fajról bebizonyosodott már, hogy ochratoxint termelnek, ilyen fajok például a *P. viridicatum*, *P. verrucosum* és *P. nordicum*. A mintáinkról azonosított *Penicillium* fajokról ez még nem bizonyosodott be.

4. Táblázat Az ITS szekvenálásból származó penész fajok

Minta	Genus	Species
Tamási 2.	<i>Penicillium</i>	<i>glandicola</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>brevicomptactum</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>bialowiezense</i>
Vértesséki ép	<i>Penicillium</i>	<i>griseofulvum</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>glandicola</i>
Tamási 1. ép	<i>Talaromyces</i>	<i>mimioluteus</i>
	<i>Talaromyces</i>	<i>ganditanus</i>
Tamási 1. lyukas	<i>Penicillium</i>	<i>griseofulvum</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>echinulatum</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>rubens</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>commune</i>
Csöprönd	<i>Penicillium</i>	<i>griseofulvum</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>echinulatum</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>solitum</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>commune</i>

5. Táblázat A táptalaj tenyésztésből származó penész fajok

Minta	Genus	Species
Szárliget	<i>Penicillium</i>	<i>notatum</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>citrinum</i>
	<i>Saharomyces</i>	
Böhönye	<i>Aspergillus</i>	<i>niger</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>citrinum</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>chermesinum</i>
Gúth	<i>Saharomyces</i>	
	<i>Penicillium</i>	<i>notatum</i>
Veszprém	<i>Aspergillus</i>	<i>niger</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>notatum</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>brevicomptactum</i>

5. Következtetések és javaslatok

Az eltérő földrajzi helyeken elejtett dámbikák táplálékában mért mikotoxin mennyiséget nagyban befolyásolhatta, hogy az adott területen milyenek voltak az adott évben, illetve évszakban az időjárási viszonyok, milyen volt a mikroklíma. Sikerült kimutatni a bendőtartalomból T2-toxint, illetve az elfogyasztott táplálékban, bélsárban és májban aflatoxint, zearalenont, DON-t, és fumonizin B1-et. Arról nincs adatunk, hogy a bikák mikor fogyasztották el és mennyi ideig emésztették a táplálékot, és ezáltal mennyi toxin kerülhetett már át a vékonybélbe, ahol az felszívódott anélkül, hogy metabolizálódhasson, s elraktározódhasson a májban. A kimutatott mikotoxin értékek nagy szórást mutattak az egyedek és az egy egyedből származó különböző biológiai minták között, de egy esetben sem haladták meg az előírt határértéket. Azonban aggodalomra adhat okot a különböző mikotoxinok együttes jelenléte az elfogyasztott táplálékban és az állatokban, mely feltételezésünk szerint a vadgazdálkodók által megfigyelt szaporodásbiológiai problémák hátterében állhatnak.

Az izomban és a májban mért alacsonyabban aflatoxin utalhat arra, hogy a területen abban az évben mikor elejtették a bikákat nem volt olyan magas a növényzet, illetve a kijuttatott takarmány aflatoxin tartalma. Illetve az időjárás nem kedvezett azoknak azon *Aspergillus* penészgombáknak, melyek termelik az aflatoxint.

Zearalenon esetében majdnem minden esetben magasabb volt a bélsárban mért zearalenon mennyisége, mint az elfogyasztott táplálékban, ebből arra lehet következtetni, hogy a bevitt toxin nagyrésze nem szívódik fel az emésztőrendszerben, hanem távozik az állatokból a bélsárral, a zearalenon a jó felszívódási rátájú mikotoxinok közé tartozik.

Az alacsony progeszteron szint utalhat tesztoszteron problémákra, mivel a progeszteronból képződik a tesztoszteron. Egy egészséges bikának párzási időszakban 25 és 100 ng/ml értékben van jelen a vérben a tesztoszteron. Ezek a bikák párzási időszakban, és a barcogás utáni időszakban lettek elejtve, vagyis a kapott értékek alapján arra lehet következtetni, hogy egyes egyedek párzási kedve alacsony lehetett ebben az időszakban, illetve, hogy lecsengett már az adott egyednél a párzási periódus.

A magas ösztrogén (a tesztoszteronhoz képest) a párzási időszakra is utalhat, mivel az ösztrogén a zsírszövetekben raktározódik, és a bikák ebben az időszakban a tartalékaikat élik fel, ilyenkor szabadulhat fel az ösztrogén.

Az ochratoxin-A és az aflatoxin értékei azért lehet kisebb, mint a többi három toxin esetében az értékek, mivel mindkettőt elsősorban olyan penészgombák termelik, amelyek az egyszerű besorolás szerint raktári penészgombák. Illetve az adott év időjárásától is függ, mint például 2022-ben a nagy aszálynak köszönhetően magasabb volt az aflatoxin jelenléte a szántóföldi gabonáknak. Ezen felül függ még a gyűjtés idejétől (évszaktól), mivel az őszi, illetve a kora téli időszakban magasabb a levegő páratartalma, és a talaj nedvességtartalma, ennek köszönhetően a talajra lehullott makkokat elsősorban *Fusarium* és *Trichoderma* fajok fogják megtámadni.

A veszprémi és böhönyi makk mintákon klasszikus tenyésztési eljárással kimutatható volt az *Aspergillus niger* jelenléte, és egyben mérhető volt ochratoxin-A is. Ez igazolja, hogy penészgombák alapján következtetni lehet arra milyen mikotoxin van a termésen, és fordítva.

Az, hogy mindkét fajtameghatározási módszernél *Penicillium* fajok voltak túlnyomó részben megtalálhatóak, annak az lehet az oka, hogy egyes penészek vagy azok spórái nem bírják a fagyasztást, illetve raktározás során nem maradnak életben.

A széna minták mikotoxin vizsgálatának eredményeként elmondhatjuk, hogy ugyan kis mennyiségben, de sikerült kimutatnunk zearalenont egy kivételével az összes mintában. Az alacsony értékek háttérében állhat, hogy a minták aszályos nyáron lettek gyűjtve, az aszályos időszak pedig nem kedvez a zearalenon-termelő *Fusarium* fajok fejlődésének.

Összességében elmondható, hogy a vizsgálat során használt módszerek megfelelőek, de egyes esetekben a mérési folyamatokat nagyban befolyásolhatják a minták speciális tulajdonságai (mint például a szaponin jelenléte makkoknál). A jövőben többféle módszert is ki kell próbálni, vagy alkalmazni annak érdekében, (például a HPLC vagy a különböző máj enzim aktivitások (AST, ALT, GGT) mérése), hogy még pontosabb eredményeket kapjunk.

6. Összefoglalás

A mikotoxinok által előidézett megbetegedések (mikotoxikózisok) egyre nagyobb jelentőséggel bírnak az állat- és humán egészségügyben szerte a világon. A mikotoxin termelő gombafajok előfordulása éghajlatonként eltérő, melyekhez az érintett növényfajok és a mikotoxin terhelésnek kitett állatfajok, illetve humán populációk hosszú évek alatt adaptálódtak. A felgyorsult klímaváltozás következményeként a gombák elterjedési területe megváltozott, és az új területeken megjelenő mikotoxinok súlyosabb egészségügyi kockázattal járnak a nem adaptálódott fajok, populációk számára (Várnagy 2002; Sugár 2007). Az elmúlt években a hazai őzek, szarvasfajok egyes populációinál számos egészségkárosodásra, a szaporodásbiológiai mutatók romlására utaló jelet figyeltek meg a vadgazdálkodók (Szőke et al., 2019).

A dolgozatban szarvasok által elfogyasztott táplálékok mikotoxin koncentrációját mértem fel, illetve a lehetséges takarmányok (makktermés, széna) mikotoxin terheltségét vizsgáltam, és azok felületén/belsejében lévő penészgombák fajokat azonosítottam. Ezen mérések és vizsgálatok alapján pontosabb képet kaphatunk arról, hogy a különféle penészgombák másodlagos anyagcseretermékei, és azok együttes előfordulása hogyan befolyásolhatják a vadgazdálkodás szempontjából jelentős (anyagilag is) trófea növekedést, illetve a szaporodásbiológiai tulajdonságokat.

Vizsgálataim során a 2020/21-es vadászati évben elejtett szarvasokból (dámszarvas, gímszarvas) származtak. Az állatok gyomortartalmából, májából, veséjéből, izmából, vérből és bélsarából a megfelelő extrakció elvégzése után aflatoxinok, ochratoxin-A, DON, zearalenon, T2/HT2, progeszteron, tesztoszteron, 17-béta-ösztadiol szintet mértünk ELISA teszt segítségével. Ezen felül az ország több pontjáról gyűjtött tölgy makkokat (kocsányos, kocsánytalan tölgy, vörös tölgy, csertölgy) is megvizsgáltam toxin terheltségre ELISA segítségével. Továbbá szénákból, mint természetes táplálék kiegészítő takarmányból zearalenon szintet mértem ELISA teszt segítségével. A tölgy makkterméseim szemmel is észlelhető penészgombatelepekről történt a mintavételezés szike segítségével. A minták egyrészt ITS szekvenálásra lettek elküldve a Biomi Kft-hez, másrészt Sabouraud Agar táptalajon történőitenyésztést követően és fenotipikus jelegek alapján történő azonosítással lettek meghatározva a penészek fajtái.

A 14 megvizsgált egyed bendőtartalmának vizsgálatából azt az eredményt kaptuk, hogy táplálkozás szempontjából a szakirodalomnak megfelelő táplálékokat fogyasztottak elejtés

előtt. Nagyrészt fűféléket, gabona-, és kukorica magvakat, kultúrnövényeket és különböző lombos fák leveleit, illetve kérgeit fogyasztották. Aflatoxin esetében egy egyednél sem haladta meg egyik vizsgált mintánál sem a 10 ng/g-os értéket. Zearalenon esetében három egyed elfogyasztott táplálékában volt kimagasló a mikotoxin szint, de így is elmaradt attól a mennyiségtől mely már klinikai toxicosis tüneteket idéz elő). Majdnem minden esetben magasabb volt a bélsárban mért zearalenon mennyisége, mint az elfogyasztott táplálékban, ebből arra lehet következtetni, hogy a bevitt toxin nagyrésze nem szívódik fel az emésztőrendszerben, hanem távozik az állatokból a bélsárral. DON toxin esetében a májából és a bélsarokból is magasabb értékeket mértünk, mint más mikotoxinok esetében. A fumonizin (FB1) tekintetében az elfogyasztott táplálékok esetében egy bikánál volt kimagasló, és egy esetben magasabb az FB1 tartalom. Progeszteron (P4) sok esetben nem volt, vagy 0,1 és 0,3 ng/ml közti mennyiségben fordult elő. Tesztoszteron szint mérésnél is hasonló képet kaptunk, bár ott három egyednél volt magasabb a mért érték a többihez képest. Az ösztrogén esetében 50 pg/ml érték mértünk általában. A magas ösztrogén (a tesztoszteronhoz képest) a párási időszakra is utalhat, mivel az ösztrogén a zsírszövetekben raktározódik és a bikák ebben az időszakban a tartalékaikat élik fel, ilyenkor szabadulhat fel az ösztrogén.

A különböző településeken eltérő eredményeket kaptunk mindegyik mikotoxin esetében. Némely mikotoxin esetében makk mintákon belül is eltérő mennyiségben voltak jelen a toxinok. Az aflatoxin mért mennyisége egy mintavételezett területen sem érte el az élelmezési határértéket (20µg/kg). Az ochratoxin-A és az aflatoxin értékei azért lehet kisebb, mint a többi három toxin esetében az értékek, mivel mindkettőt elsősorban olyan penészgombák termelik, amelyek az egyszerű besorolás szerint raktári penészgombák.

Az ITS szekvenálásból kapott eredmények alapján elsősorban *Penicillium* és *Talaromyces* mikroszkopikus gombafajok voltak jelen a makkon. A táptalajon kitenyésztett penészek változatosabbak voltak, mint amit ITS szekvenálás során kapott eredmények mutattak. A kitenyésztett penészek közül mikotoxin termelés tekintetében az *Aspergillus niger* volt jelentős, mivel ochratoxinokat és fumonizineket termelhet.

7. Irodalomjegyzék

1. Abysique, A., Tardivel, C., Troadec, J.-D., Félix, B. (2015). The Food Contaminant Mycotoxin Deoxynivalenol Inhibits the Swallowing Reflex in Anaesthetized Rats. *PLOS ONE*, 10(7). doi:10.1371/journal.pone.0133355
2. Acharya, T., Hare, J. (2022): Sabouraud Agar and Other Fungal Growth Media. *Laboratory protocols in fungal biology*, 69-86 p
3. Agriopoulou S., Stamatelopoulou E., Varzakas T. (2020): Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods. *MDPI Foods* 2020, 9, 137.
4. Mobeen, A. M., Firdaus, O., Monica, A., Malik, A. (2022). Natural inhibitors: A sustainable way to combat aflatoxins. *Frontiers in Microbiology*. 13. 993834. 10.3389/fmicb.2022.993834.
5. Myserud, A., Bjørnsen, B., H., Østbye, E., (1997): Effects of snow depth on food and habitat selection by roe deer *Capreolus capreolus* along an altitudinal gradient in south-central Norway. *Wildlife Biology*, 3(3/4): 27-33
6. Babinszky L., Halas V. (Szerk) (2019): Innovatív takarmányozás. Akadémia Kiadó, Budapest, 996 p.
7. Aanchal, B., Megha, S., Aakanksha, P., Jata, S. (2023). Aflatoxins: Occurrence, Biosynthesis Pathway, Management, and Impact on Health. 10.1007/978-981-19-9103-5_21.
8. Borkowski, J., Obidzinski, A. (2003):. The composition of the autumn and winter diets in two Polish populations of fallow deer. *Acta Theriologica*, 48(4): 539-536. pp
9. Brydl E. (Szerk.) (1987): A szarvasmarha anyagforgalmi betegségei és mérgezései. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 303 p
10. Cserhádi M. (2013): Mikotoxinok biodegradációjára képes mikroorganizmusok szelekciója és alkalmazása. Doktori értekezés. Szent István Egyetem, Gödöllő, 143 p
11. Deák T., Farkas J. Incze K. (1980): Konzerv-, hús- és hűtőipari mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 356 p.
12. Faragó, S. (2015): Vadászatiállattan. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 542 p.
13. Fles-Klerx H. J., Vermeulen L. C., Gavai K.A., Liu C. (2019): Climate change impacts on aflatoxin B1 in maize and aflatoxin M1 in milk: A case study of maize grown in Eastern Europe and imported to the Netherlands. *Plosone*, 14, 6 doi:10.1371/journal.pone.0218956
14. Frisvad, J. C., Larsen, T. O., Thrane, U., Meijer, M., Varga, J., Samson, R. A., & Nielsen, K. F. (2011): Fumonisin and Ochratoxin Production in Industrial *Aspergillus niger* Strains. *PLoS ONE*, 6(8), e23496. doi:10.1371/journal.pone.0023496
15. Gajicka M., Zielonka L., Babuchowski A., Gajicka T. (2022): Exposure to Low Zearalenone Doses and Changes in the Homeostasis and Concentrations of Endogenous Hormones in Selected Steroid-Sensitive Tissues in Pre-Pubertal Gilts. *MDPI Toxins*, 14, 790, 18 p.
16. Gasztonyi K. (Szerk.) (1979): Az élelmiszerkémia alapjai. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 531 p.
17. Ghareeb, K., Awad, W. A., Soodoi, C., Sasgary, S., Strasser, A., & Böhm, J. (2013). Effects of Feed Contaminant Deoxynivalenol on Plasma Cytokines and mRNA Expression of Immune Genes in the Intestine of Broiler Chickens. *PLoS ONE*, 8(8), e71492. doi:10.1371/journal.pone.0071492

18. Guo Qiao, Hua Li, De-Hai Xu, Soo Il (2012): Modified a colony forming unit microbial adherence to hydrocarbons assay and evaluated cell surface hydrophobicity and biofilm production of vibrio scophthalmi. *Journal of Bacteriol and Parasitol.* 2012;3:130
19. Györfi, J. (2010): Gombabiológia-gombatermesztés. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 350 p.
20. Harčárová, M., Nad, P., Frantisek, Z. (2023): Ochratoxin Incidence in Poultry Feed Mixtures. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences.* 10, 6
21. Heltay I. (2014): Vadásziskola, Hubertus Kft. Budapest, 411 p
22. Homonnay Zs., Karner I., Wöller L. (1977): Adatok a Fusarium graminearum által termelt F2 toxin tartalmú takarmány etetésének Cervidae fajok hímjeire gyakorolt hatásához. *Állattani Közlemény,* 64: 55-64.
23. Horváth Z. (Szerk) (1983): Szarvasmarha egészségtana. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 538 p.
24. Hu, Lin-Lin, Chen, Shun, Shen, Meng-Ying, Huang, Qiu-Yan, Li, Hong-Ge, Shao, Sun, Wang, Jun-Li, Luo, Xiao-Qiong. (2023): Aflatoxin B1 impairs porcine oocyte quality via disturbing intracellular membrane system and ATP production. *Ecotoxicology and environmental safety.* 263. 115213. 10.1016/j.ecoenv.2023.115213.
25. Latham, J., Staines, B. W., Gorman, M. L. (2006): Comparative feeding ecology of red (Cervus elaphus) and roe deer (Capreolus capreolus) in Scottish plantation forests. (abstract sorszáma) *Journal of Zoology* 247: 409-418 pp.
26. Kállai, Kralóvanszky (1978): A takarmányozás biológiája. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest, 420 p.
27. Kótiné S. J., Dégen L. (2015): A tejelő tehén takarmányában leggyakrabban előforduló mikotoxinok „Mérge gombák” másképp. V. ÁLLATEGÉSZSÉG ÉS TAKARMÁNYOZÁS
28. Kovács M. (Szerk) (2010): Aktualitások a mikotoxin kutatásban. Agroinform Kiadó, Budapest, 156 p.
29. Ryberg, M., Kristiansson, E., Sjökvist, E., Nilsson, R. H. (2009): An Outlook on the Fungal Internal Transcribed Spacer Sequences in GenBank and the Introduction of a Web-Based Tool for the Exploration of Fungal Diversity. *The New Phytologist*, Vol. 181, No. 2, pp. 471-477
30. Mátrai, K. (1994): A gímszarvas, a dám és a muflon őszi tápláléka és élőhely használata a gödöllői dombvidéken. *Vadbiológia* 4: 11-17. pp.
31. Mátrai, K., Szemethy, L. (2000): A gímszarvas szezonális táplálékának jellegzetességei Magyarország különböző élőhelyein. *Vadbiológia.* 7: 1-9.
32. Mézes M. (Szerk) (2023): Takarmánytoxikológia. Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élettani és Takarmányozástani Intézet Takarmánybiztonsági Tanszék, Budapest-Gödöllő, 96 p.
33. Mézes M. (szerk.) (2013): Takarmánytoxikológia. – Szent István Egyetemi Kiadó, Gödöllő, 130 p
34. Minervini, F., Dell'Aquila, E. (2008): Zearalenone and Reproductive Function in Farm Animals. . *International Journal of Molecular Sciences.* 2008, 9, 2070-2084.
35. Náhlik, A., Sándor, Gy. (2008): A vadállomány hasznosítása, FVM Vidékfejlesztési, Képzési és Szaktanácsadási Intézet, Budapest, 267 pp.
36. Pooja, M., Murkute, S., Paresh, M., Patil, H., Gajanan, S., Sananp, Nakul, Mr., Kathar, P., Aishwarya, M., Pimple, P., Pharm, B., Murkute, P. (2023): A REVIEW ON HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC). *International Journal for Research Trends and Innovation*, Vol 7 ISSN: 2456-3315

37. Prokesová, J. (2004): Red deer in the floodplain forest: the brown special list. *Folia Zool.* 53, 293-302.
38. Rodrigues, I., Nachrer, K. (2012) A three-year survey on the worldwide occurrence of mycotoxins in feedstuffs and feed. *Toxins*, 4, 663–675.
39. Rodrigues, P.; Venâncio, A.; Lima, N. (2012): Mycobiota and mycotoxins of almonds and chestnuts with special reference to aflatoxins. *Food Res.*, 48, 76–90.
40. Rotter, A. B. (1996): Invited Review: Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *Journal of Toxicology and Environmental Health.* 1996, 48,
41. Simon, T. (Szerk.) (2001): Baktérium, Alga, Gomba, Zuzmó és Mohahatározó. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, 832 p.
42. Sugár L. (Szerk.) (2007): Vadbetegségek. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 149 p.
43. Szécsi, Á., Magyar, D., Varga, M. (2023): Fumonizineket-termelő *Fusarium verticillioides* genotípusok azonosítása, elterjedésük felmérése a hazai kalászos gabona- és kukorica-termőhelyeken (abstract)
44. Szigeti, Gy. (2018): Az *Aspergillus* nemzetség átfogó filogenetikai analízise; potenciális mikotoxin-termelő és opportunistá patogén fekete *Aspergillus* törzsek jellemzése. Doktori értekezés, Szegedi Tudomány Egyetem. 90 p.
45. Szőke, Zs., Lakatos, I., Peer, G., Szemethy, D., Vörös-Láczó, E., Szemethy L. (2019): Dél-Dunántúli régió dászarvas populációit érintő trófeaeépítési- és szaporodásbiológiai rendellenességek vizsgálat (2019) 25. Szaporodásbiológiai Találkozó, 2019. november 8-9. Balatonkenese, Közlemény:31188671
46. Tamime A. (Szerk) (2017): Microbial Toxins in Dairy Products. John Wiley & Sons Ltd, Egyesült Királyság, 354 p
47. Tola, M.; Kebede, B. (2016): Occurrence, importance and control of mycotoxins: A review. *Cogent Food Agric.* 2016, 2, 1–12.
48. Varga J., Szigeti Gy., Baranyi N., Szekeres A., Kocsibé S. (2014): Mikotoxinok, Mikotoxinogén gombák, Micetizmusok. Szeged 99p.
49. Várnagy L., (Szerk.) (2002): Állategészség védelem. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 336 p.
50. Yang, R. H., Su, J. H., Shang, J.J., Wu, Y. Y., Li, Y., Bao, D. P. (2018): Evaluation of the ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS), specifically ITS1 and ITS2, for the analysis of fungal diversity by deep sequencing. *PLoS ONE* 13 (10): e0206428. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206428>
51. Yazar, S., Omurtag, G. Z. (2008): Fumonisin, Trichothecenes and Zearalenone in Cereals. *International Journal of Molecular Sciences.* 2008, 9, 2062-2090
52. Young, L., McGirr, L., Valli, V., Lumsden, J., Lun, A. (1983): Vomitoxin in Corn Fed to Young Pigs. *Journal of Animal Science*, Vol 57, 655-664
53. Zeebone, Y., Kovacs, M., Bóta, B., Halas, V. (2022): The Effect of Dietary Fumonisin Exposure on Apparent Ileal Digestibility of Amino Acids in Fattening Pigs. *Agriculture.* 12. 1720. 10.3390/agriculture12101720.
54. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35737237/>

Rövidítések jegyzéke

AFB1- Aflatoxin B1

AP1-Aminopentol 1

ATP- Adenozin trifoszfát

aw- Relatív nedveség századrésze

BAX- BLC2 kisegítő X fehérje

BLC2- B-sejt Limfóma 2

DNS-Dezoxi Ribonukleinsav

DON- Deoxynivalenol

E2-Ösztradiol

ER- Endoplazmatikus retikulum

F2- Zearalenon

GnRH-Gonadotropin

HSD-Hipermobilitási Spektrum Zavar

IARC-International Association for Cryptologic Research

ITS- Internal Transcribed Spacer

LD₅₀- Letális dózis

LH- Luteinizáló hormon

OTA- Ochratoxin A

P4-Progeszteron

TCA-Triklór ecetsav

TNF α - Tumor Nekrózis Faktor alfa

t-RNS-Transzfer ribonukleinsav

UV- Ultra Viola

ZEA-Zearalenon

ZOL- Zearalenol

8. Ábrák és táblázatok jegyzéke

1. Ábra. A főbb mikotoxinok kémiai szerkezeti képletei 7. oldal
2. Ábra Az *Aspergillus* fajok által termelt toxinok kémiai szerkezete 12. oldal
3. Ábra. az Ochratoxin kémiai szerkezete 14. oldal
4. Ábra A fumonizinek kémiai szerkezete 15. oldal
5. Ábra A zearalenon és metabolitjainak kémiai szerkezetei 17. oldal
6. Ábra A tetraciklikus trichotecének kémiai szerkezete 18. oldal
7. Ábra Az elfogyasztott táplálékok mikotoxin értékei 28. oldal
8. Ábra A vizsgált egyedek és elfogyasztott táplálékuk aflatoxin terheltsége 29. oldal
9. Ábra A vizsgált egyedek és elfogyasztott táplálékuk zearalenon terheltsége 29. oldal
10. Ábra. A vizsgált egyedek és elfogyasztott táplálékuk Deoxynivalenol terheltsége 30. oldal
11. Ábra. A vizsgált egyedek és elfogyasztott táplálékuk Fumonizin B1 terheltsége 31. oldal
12. Ábra A vizsgált egyedek elfogyasztott táplálékuk T2-toxin terheltsége 31. oldal
13. Ábra A vizsgált egyedek vérének tesztoszteron és progeszteron szintje 32. oldal
14. Ábra A vizsgált egyedek vérének ösztrogén tartalma 32. oldal
15. Ábra Széna minták zearalenon tartalma 33. oldal
1. Táblázat A leggyakoribb mikotoxinokat termelő penészgombák 9. oldal
2. Táblázat Az aflatoxin B1 akut toxicitása különböző állatfajoknál 10. oldal
3. Táblázat A vizsgált makkok mikotoxin tartalma 34. oldal
4. Táblázat Az ITS szekvenálásból származó penész fajok 35. oldal
5. Táblázat A táptalaj tenyésztésből származó penész fajok 35. oldal

10. Melléklet



Levél cím: 2100 Gödöllő, Pf. 411
Telefon: (28) 526-100 Iktatószám
Fax: (28) 526-101 Hív. szám:
Web: <http://www.naik.hu> Ügyint.:

NAIK MBK MÁB-azonosító: 004-09/2018

NAIK MÁB JEGYZŐKÖNYV

Cég megnevezése:	NAIK-Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézet
Cég címe:	2100, Gödöllő, Szent-Györgyi Albert u. 4
Időpontja:	2018-09-25

Szarvas mintagyűjtés véleményezése és engedélyezése:

Dr. Szőke Zsuzsanna kérelemmel fordult a Munkahelyi Állatvédelmi Bizottsághoz, hogy véleményezzék az országos szarvas mintavételi tervet, ami szerint a szövetminták vadásztársaságoktól, vadfeldolgozóktól kerülnének begyűjtésre. Állatkisérletek nem lesznek, a mindenkori jogszabályok betartása mellett a már nem élő állatokból lenne szövetminta eltávolítva, mikotoxin, glifozát és szteroid analízisekhez, valamint újgenerációs szekvenálásokhoz.

Jelen vannak:

Dr. Bognár Gábor, Dr. Stéger Viktor, Dr. Hoffmann Orsolya Ivett, Dr. Bodrogi Lilla, Dr. Bender Balázs, Németh Andrea, Udri Ágnes

A MÁB véleménye:

- I) Nem szükséges állat kísérleti engedély kérni, mert nem minősül állat kísérletnek a terepen végzett már elpusztult állatokból a minta eltávolítása.
- II) A bizottság megszavazta 6 igen és 1 tartózkodás mellett a vaddisznó mintavételi kérelmet.

Gödöllő,

2018-09-25

Dr. Stéger Viktor
NAIK MÁB elnök

Nemzeti Agrárkutató és Innovációs Központ

1.kép A munkahelyi Állatvédelmi Bizottság jegyzőkönyve

MATE Szervezeti és Működési Szabályzat

III. Hallgatói Követelményrendszer

III.1. Tanulmányi és Vizsgaszabályzat

6.13. sz. függeléke: A MATE egységes szakdolgozat /
diplomadolgozat / záródolgozat / portfólió készítési útmutatója

4.1. sz. melléklete: Konzulensi nyilatkozat

NYILATKOZAT

PLAVIC PATRIK (név) (hallgató Neptun azonosítója: F2YL6G)
konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a
záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót¹ áttekintettem, a hallgatót az
irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól
tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő
védésre javaslom / nem javaslom².

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*3}

Kelt: 2023 év 11 hó 08 nap

Bak Gabriella
belső konzulens

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

² A megfelelő aláhúzendő.

³ A megfelelő aláhúzendő.

NYILATKOZAT

a záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió1 nyilvános hozzáféréséről és
eredetiségéről

A hallgató neve: Plank Patrik

A Hallgató Neptun kódja: F2YL6G

A dolgozat címe: A hazai nagyvadak természetes tápláléknövényeinek mikotoxin analízise

A megjelenés éve: 2023

A konzulens intézetének neve: Genetika és Biotechnológia Intézet

A konzulens tanszékének a neve: Állatbiotechnológia Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió2 egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlant állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek. A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem. Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek. Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően

- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után

nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Gödöllő, 2023 év november hó 09. nap



Hallgató aláírása