

**DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**  
**EGY BOKONTROLL KÉPESSÉGEKKEL RENDELKEZŐ**  
***BACILLUS SUBTILIS* TÖRZS ÖKOFIZIOLÓGIAI ÉS**  
**MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE**

**BENCSIK-BÓKA BETTINA**

**TÉMAVEZETŐK:**

**DR. MANCZINGER LÁSZLÓ, EGYETEMI DOCENS**

**BIOLÓGIA DOKTORI ISKOLA**



**SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM**  
**TERMÉSZETTUDOMÁNYI ÉS INFORMATIKAI KAR**  
**MIKROBIOLÓGIAI TANSZÉK**

**SZEGED**

**2019**

## BEVEZETÉS

A vírusok, baktériumok és gombák által okozott növényi, illetve gombabetegségek komoly károkat okozhatnak a mezőgazdaságban. Napjainkban a legelterjedtebb és leghatékonyabb védekezési módszer a kémiai növényvédőszer használata. A magas felhasználási ráta számos problémát von maga után, úgymint a másodlagos kártevők megjelenése, rezisztencia kialakulása, környezeti terhelés, továbbá az emberi egészség veszélyeztetése. Éppen ezért már az 1920-as évek óta foglalkoztatja a kutatókat a patogén mikroorganizmusok biológiai védekezéssel történő visszaszorítása. Napjainkban egyre növekvő igény mutatkozik az alternatív, kémiai szermaradványok jelenlétét kiküszöbölő megoldások iránt. Az egyik ilyen fakultatív útvonal a biológiai védekezés alkalmazása.

A növénybiológiában biokontroll ágenseknek nevezik azokat a mikroorganizmusokat, melyek képesek a kártevőket elnyomni. A biológiai védekezés céljaira a mikroorganizmusokon túl az általuk termelt vegyületeket is fel lehet használni. A *Bacillus* nemzetség spóráképzése nagy előnyt jelent a biológiai védekezés során. Kedvezőtlen körülmények között biztosítja a baktérium túlélését, továbbá nagymértékben megkönnyíti a mikrobiális peszticidek kiszerezését is. A *Bac. subtilis* a mezőgazdaságban, az élelmiszeriparban és a gyógyászatban is fontos szerepet tölt be extracelluláris enzimek (proteáz, kitináz, lipáz, celluláz) és antibiotikumok termelése révén. A *Bac. subtilis* genomjának 4-5%-a antibiotikum-szintézisért felelős géneket kódol, ezáltal ez a faj képes

több mint két tucat, strukturálisan diverz antimikrobiális vegyület termelésére. A három leginkább tanulmányozott, nem-riboszómális peptidszintézis útján létrejövő ciklikus lipopeptid családot a szurfaktinok, az iturinok és a fengicinek alkotják.

A fengicin család tagjai ciklikus lipodekapeptidek, melyek peptidrésze 10 aminosavból áll, míg a kapcsolódó szénlánc hossza C14-C18 között változik. Széles spektrumú antifungális hatással rendelkeznek.

Az iturinok 7 fő variánsa az iturin A és C, a bacillomicin D, F, L és LC, valamint a mikoszubtilin. Ezen vegyületek 7 aminosavból álló, ciklikus peptidgyűrűt és egy zsírsavláncot tartalmaznak. Erős *in vitro* antifungális aktivitásuk ismert élesztőkre illetve fonalas gombákra, de csak korlátozott antibakteriális hatással rendelkeznek, míg antivirális hatásukat napjainkig nem dokumentálták.

A szurfaktin család tagjai heptapeptidek, melyek béta-hidroxi-zsírsavval ciklikus laktongyűrűt hoznak létre. Hemolitikus, antivirális, antimikoplazmatikus és antibakteriális tulajdonsággal rendelkeznek. A szurfaktinok gyulladáscsökkentő hatása a foszfolipáz A2 gátlása révén valósul meg. Tumorelleses aktivitásukat jól szemlélteti az Ehrlich Ascites karcinóma sejteken kifejtett antiproliferatív hatás. A szurfaktinok trombolitikus terápiás szerként történő alkalmazása is kutatott tüdő-, szívizom- és agyi rendellenességek esetén.

Mindezek mellett a *Bac. subtilis* szerepet játszik a növényi növekedés serkentésében, valamint a növényi rezisztencia indukciójában is.

## CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során célul tűztük ki:

1. a *Bacillus subtilis* SZMC 6179J izolátum ökofiziológiai jellemzését, növény- illetve gombapatogén mikrobatorzsekkel szembeni *in vitro* antagonista képességeinek felmérését,
2. kompetíciós képességeinek háttérében álló extracelluláris enzim-, illetve antibiotikum-termelési képességeinek elemzését,
3. a törzsből spontán sztreptomycin-rezisztens mutánsok izolálását, a mutánsok kimotripszin-típusú proteáz termelésének vizsgálatát, a sztreptomycin-rezisztens törzsek *rpsL* génjének szekvenciájában bekövetkezett változások feltárását,
4. a *Bac. subtilis* SZMC6179J törzs enzimtermelésének vizsgálatát különböző környezeti tényezők függvényében,
5. a törzs által termelt ciklikus lipopeptidek, különösképpen szurfaktin-típusú vegyületek jellemzését,

6. az általunk izolált *Bac. subtilis* SZMC 6179J törzs teljes genomjának szekvenálását és a *Bac. subtilis* subsp. *subtilis* 168 típus törzssel való összehasonlító elemzését.

#### ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

- *Bacillus* nemzetség szelektív izolálása
- Az izolált *Bacillus* törzsek *in vitro* antagonista képességeinek vizsgálata
- Az izolált *Bacillus* törzsek azonosítása PCR-technikával
- Az izolátum ökofiziológiai jellemzése különböző hőmérsékleti, pH és vízaktivitási értékeken
- Az izolátum *in-vitro* antagonista képességeinek vizsgálata, a teszt kiértékelése Biológiai Kontroll Index (BCI) értékek meghatározásával
- A törzs növény- és gombapatogén baktériumok növekedésére gyakorolt hatásának vizsgálata RISA módszerrel
- Az izolátum enzimtermelésének vizsgálata
  - Sziderofór, lipáz, kazeináz, zselatináz, kitináz aktivitásának és keményítóbontásának vizsgálata táplemezen
  - Proteáz, tripszin-típusú proteáz, kimotripszin-típusú proteáz,  $\beta$ -glükózidáz, N-acetilglükózaminidáz (NAG-áz), kitobiozidáz, palmitoilészteráz, cellobiohidroláz vizsgálata kromogén szubsztrátokkal

- Spontán sztreptomycin-rezisztens törzsek izolálása szelektív táptalajon, a törzsek génszekvenciáinak elemzése BLAST módszerrel
- Növekedés- és enzimtermelés-optimalizálási kísérletek
  - Kísérlettervezés: Design-Expert 7.1 szoftver segítségével
  - Válaszfelületi módszer: Box-Behnken elrendezés
- A törzs kimotripszin-típusú proteáz termelésének és aktivitásának vizsgálata különböző szén- és nitrogénforrások, fémek és peszticidek jelenlétében
- A törzs szurfaktin-termelésének vizsgálata direkt bioautográfias módszerrel
- Az antibiotikum-termelésért felelős gének azonosítása PCR-módszerrel
- A törzs által termelt szurfaktin izoformák mennyiségi elemzése HPLC-MS módszerrel
- A törzs teljes genomjának elemzése
  - Szekvenciák összerendezéséhez a *CLC Genomics Workbench 4.7.2* (CLC Bio) és az *Omixon Gapped SOLiD Alignment 1.2 plug-in* (Omixon) programokat használtuk. Az annotációt az NCBI *Prokaryotic Genome Annotation Pipeline* (PGAAP) programjával végeztük
  - Az összerendezett read-eket a típustörzs genomjára a *Genomics Workbench 4.7.2* programmal térképeztük

- A törzs pontos taxonómiai pozíciójának meghatározására multilókuszos szekvencia-tipizálást (MLST) alkalmaztunk
- A Maximum Likelihood (ML) fák létrehozásához a raxmlGUI 1.5b1 és a RAxML 8.2.7 szoftvereket használtuk
- Az egy pontos nuleotid-polimorfizmusok (SNP-k)- és a deléciós-inszerciós polimorfizmusok (DIP-ek)-azonosításához a *CLC Sequence Viewer 6.5.3.* és a *CLC Genomics Workbench 5.1.* szoftvereket használtuk
- A feltételezett antimikrobiális génklaszterek kereséséhez az antiSMASH szerverét használtuk
- A *Bacillus* genomban található profágszekvenciák analizését a PHAST keresőrendszerrel valósítottuk meg. A profágszerű ICEBs1 elem eloszlását a *Bacillus* törzsekben BLAST segítségével vizsgáltuk, a szemléltetést pedig a Kablammo szerverrel végeztük

## EREDMÉNYEK

A törzs ökofiziológiai vizsgálata során optimális növekedéséhez az alábbi körülményeket találtuk a legjobbnak: 40 °C, pH 7 és 7,6 közötti érték és  $a_w=0,995$ .

A vizsgált növénypatogének közül a törzs a botritiszes rothadást okozó *Botrytis cinerea* SZMC 14526, a *Bipolaris bicolor* SZMC 13055, *Curvularia spicifera* SZMC 13060, *Phytophthora infestans* SZMC 6246J törzsekkel; továbbá 3 *Armillaria* törzs, az *Armillaria mellea* SZMC 24132, *Armillaria gallica* SZMC 24095 és az *Armillaria ostoyae* SZMC 24129 ellen tapasztaltunk 50%-nál nagyobb biokontroll index-értékeket. A vizsgált *Trichoderma* törzsek közül 4 *Trichoderma pleuroti* törzs esetében mértünk 50% feletti BCI-értékeket. Az *Aspergillus* törzsek közül 50%-nál nagyobb BCI-értékeket egyik törzssel szemben sem tapasztaltunk.

Növénypatogén baktériumokkal szembeni *in vitro* antagonizmus-tesztjeink során a vizsgált *Pseudomonas syringae* pv. *panici* SZMC 16160 törzssel szemben kiemelkedő gátlást tapasztaltunk. A *Clavibacter michiganensis* SZMC 0016 törzs az általunk vizsgált három pH-értéken már a 2. napon nem volt kimutatható a tenyészetből. A további vizsgált növénypatogén törzsek közül egyedül az *Allorhizobium vitis* SZMC 21396 törzs esetében tapasztaltunk gátló hatást (Vágvölgyi és mtsai. 2013).

A törzs további jellemzése során megállapítottuk, hogy a biológiai védekezés szempontjából fontos kompetícióban előnyt jelentő sziderofórtermelő tulajdonsággal rendelkezik, lipáz-,



kazeináz-, kitináz- és zselatináz aktivitása nincs, a keményítő bontására viszont képes.

A törzs extracelluláris enzimek termelésére való képességének vizsgálatát előzetes eredmények alapján ötféle tápoldatban vizsgáltuk. A legeredményesebbnek a Besson-féle tápoldatot találtuk. Az extracelluláris enzimek vizsgálata során a kimotripszin-típusú és a tripszin-típusú proteáz termelését találtuk kiemelkedőnek a vizsgált proteáz,  $\beta$ -glükozidáz, N-acetilglükózaminidáz, kitobiozidáz, palmitoil-észteráz, cellobiohidroláz és lipáz aktivitások közül.

A vad törzsből izolált 169 spontán sztreptomycin-rezisztens mutáns közül 12 mutatott fokozott enzimtermelést. A spontán sztreptomycin-rezisztens mutánsok *rpsL* génjének szekvenenciaanalízise során néhány esetben nukleotid-tranzíciót (timin helyett adenin, illetve adenin helyett guanin) mutattunk ki.

Vizsgáltuk a törzs növekedését és kimotripszin-típusú proteáz termelésére való képességét különböző szén- illetve nitrogénforrások jelenlétében. A szénforrások cseréjét követően az adonit, D-xilóz, eritrit, galaktóz, L-arabinóz, L-ramnóz és szacharóz esetében tapasztaltunk nagyobb növekedést a törzs biomasszájában, az enzimvizsgálat során pedig a cellobióz, D-xilóz, fruktóz, glicerin, keményítő, szacharóz jelenlétében tapasztaltunk szignifikáns kimotripszin-típusú proteáz termelést.

A nitrogénforrások cseréje során egyedül az L-alanin esetében tapasztaltunk biomassza-növekedést, míg az L-aszparaginsav és az L-tirozin esetében jelentős sejtszám-csökkenés következett be.

A nitrogénforrások cseréje során minden esetben szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a kimotripszin-típusú proteáz termelésében.

A glükóz, élesztőkivonat és a tenyésztési idő növekedésre, illetve proteáztermelésre kifejtett hatásának vizsgálata során prediktáltuk az optimális biomaszának megfelelő időt (5,5 nap) és az optimális glükóz- (11 g/l) és élesztőkivonat-koncentrációt (5,5 g/l). A legmagasabb relatív enzimaktivitást az első napon mértük 2 g/l glükóz és 5,5 g/l élesztőkivonat esetében.

Glükóz, nátrium-glutamát, valamint réz-szulfát a törzs növekedésére és kimotripszin-típusú proteáz-termelésére gyakorolt hatásának vizsgálata során a 30 g/l glükóz, 10 g/l nátrium-glutamát és 1 mg/l  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  koncentráció mellett értük el a legnagyobb biomaszát. A kimotripszin-típusú proteáz termelődésének a 30 g/l glükóz és 10 g/l nátrium-glutamát kedvezett leginkább 1 mg/l koncentrációjú  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  jelenlétében.

Glükóz, nátrium-glutamát, valamint vas-szulfát hatását tanulmányozva a legnagyobb biomaszát 15,5 g/l glükóz, 10 g/l nátrium-glutamát és 40 mg/l  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  mellett tapasztaltuk. A legnagyobb proteáz aktivitást 30 g/l glükózt, 1 g/l nátrium-glutamátot és 40 mg/l  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ -t tartalmazó fermentlében tapasztaltuk.

A fémionok hatásának vizsgálata során a mangán-szulfát jelentősen növelte a törzs növekedését, 0,1 mM mangán jelenlétében megháromszorozódott a vizsgált fermentlé optikai denzitása. A réz-, vas-, nikkel- és kadmium-szulfát jelenlétében a törzs növekedése jelentősen gátolt volt, kizárólag a 0,1 mM-os koncentráció jelenlétében mutatott toleranciát, a magasabb koncentrációk erősen

gátolták a növekedést. A kimotripszin-típusú proteáz termelésének vizsgálata során a mangán-szulfát jelenlétében történő fokozott enzimtermelésről számoltunk be. Az 1, 0,5 és 0,1 mM réz-szulfát szignifikánsan csökkentette az enzim termelődését. Az 1 mM vas-szulfát szignifikánsan csökkentette, a 0,5 mM vas-szulfát nem befolyásolta szignifikánsan, a 0,1 mM vas-szulfát pedig növelte az enzimtermelődést. A nikkel- és kadmium-szulfát esetében mindhárom alkalmazott koncentráció jelentősen gátolta a kimotripszin-típusú proteáz termelését. A törzs növekedését tekintve jelentős réz- és kadmium-szulfát toleranciával rendelkezik, ezzel szemben a proteáz szekrécióját ezek a fémek már alacsonyabb koncentrációk mellett is teljesen blokkolják. A fémionok enzimaktivásra kifejtett hatásának vizsgálata során megállapítottuk, hogy 1 és 0,5 mM mangán-, réz-, vas- és kadmium-szulfát jelenlétében csökkent az enzimaktivitás. A 0,1 mM mangán-, réz-, vas- és kadmium-szulfát nem okozott szignifikáns változást az enzimaktivásban, míg a nikkel-szulfát mindhárom vizsgált koncentrációban gátolta a törzs kimotripszin-típusú proteáz aktivitását.

A herbicidek és fungicidek növekedésre gyakorolt hatásának vizsgálata során a kísérlet 9. napján a sejtszámban szignifikáns csökkenéseket 25  $\mu\text{M}$  2,4-diklór-fenoxi-ecetsav és klór-toluron; 25, 12,5 és 6,25  $\mu\text{M}$  linuron, 3,125  $\mu\text{M}$ , 25 és 12,5  $\mu\text{M}$  mankozeb esetében tapasztaltunk. A 6. napon a 2,4-diklór-fenoxi-ecetsav, a klór-toluron, a linuron, a karbendazim és a mankozeb 25 és 12,5  $\mu\text{M}$ -os koncentrációi jelentősen gátolták a törzs kimotripszin-típusú proteáz termelésére való képességeit. A klór-toluron és a linuron alacsonyabb

koncentrációi (6,25 és 3,125  $\mu\text{M}$ ) is gátolták az enzimtermelést. A 6,25 és 3,125  $\mu\text{M}$  2,4-diklór-fenoxi-ecetsav és mankozeb, valamint a 3,125  $\mu\text{M}$  karbendazim esetében tapasztaltunk nem szignifikáns különbséget a kimotripszin-típusú enzim termelésében. A vizsgálat 9. napján a peszticidek a törzs enzimtermelésére negatív hatással voltak. A 25  $\mu\text{M}$  2,4-diklór-fenoxi-ecetsav és klór-toluron, továbbá a 25, 12,5 és 6,25  $\mu\text{M}$  linuron és mankozeb, valamint a karbendazim mind a négy alkalmazott koncentrációja szignifikáns csökkenést eredményezett a törzs által termelt kimotripszin-típusú proteáz aktivitásában.

A törzs hemolitikus tulajdonságának bizonyítását követően a szurfaktin termelését bioautográfiás módszerrel is igazoltuk, majd specifikus primerek segítségével azonosítottuk a törzsben jelenlévő, fengicin és szurfaktin bioszintéziséért felelős géneket.

A vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálatokat követően a törzs szurfaktintermelését tömegspektrometriás módszerrel is bizonyítottuk. A szurfaktintermelés elemzését követően elmondhatjuk, hogy a *Bac. subtilis* SZMC 6179J törzs fermentlevéből származó extraktumok vizsgálata során 26 szurfaktinvegyület került azonosításra, melyek három már ismert, és egy új csoportba [Val2] sorolhatók. A C14-C15 [Sur] és [Val7] adták a vizsgált törzs által termelt 4 fő szurfaktint, míg az újonnan leírt izoforma mennyisége a teljes termelt szurfaktin mennyiségének kevesebb, mint 1%-a volt (Bóka és mtsai. 2016).

Meghatároztuk a *Bac. subtilis* SZMC 6179J törzs teljes genom szekvenciáját és elvégeztük a *Bac. subtilis* subsp. *subtilis* 168 típus törzs teljes genomjával történő összehasonlító elemzését. A törzs

taxonómiai pozíciójának elemzése során megállapítottuk, hogy a törzs a *Bac. subtilis* subsp. *subtilis* csoport tagja, és filogenetikailag közel áll a *Bac. subtilis* subsp. *subtilis* str. 168 típus törzshöz. A genomban található SNP-k száma 106 (35%-os érzékenységnél). A legtöbb allélvariációt az *yqcG* génben találtuk. Ez a gén szerepet játszik a sikeres kompetícióban, a *Bacillus* nemzetség egyéb tagjainak növekedését képes kontaktfüggő gátlás révén elnyomni. Ha a baktériumpopuláció YqcG toxinja magas N-terminális szekvenciavariációt mutat, akkor a baktérium képes lesz több, különböző membránprotein-felzárókkal rendelkező kompetitor baktériumot elnyomni. Feltehetőleg ez az oka annak, hogy az SZMC 6179J törzs *yqcG* génjében ilyen nagy a szekvencia variabilitása. Egy egynukleotidos deléció az *sfp* génben feltehetően helyreállította a gén funkcióját az SZMC 6179J törzsben, ezáltal lehetővé vált a fengicinok és szurfaktinok szintézise, ami jobb biokontroll képességűvé tette a törzset a típus törzshöz képest. A *Bac. subtilis* SZMC 6179J genom hipermutációs régióinak analízise alapján feltételezhető, hogy a leggyorsabb evolúciós események a kompetíciós folyamatokban és a sejtfal-lízisben szerepet játszó génekben történnek (Bóka és mtsai. 2019).

## ÖSSZEFOGLALÁS

1. Izoláltunk egy jó biokontroll képességekkel rendelkező *Bacillus* törzset.
2. Meghatároztuk a törzs ökofiziológiai paramétereit.
3. Jellemeztük a törzs *in-vitro* antagonista képességeit növény- és gombapatogén gombákkal, baktériumokkal szemben.
4. Jellemeztük a *Bac. subtilis* SZMC 6179J törzs extracelluláris enzimek termelésére való képességeit.
5. A törzsből spontán sztreptomycin-rezisztens mutánsokat izoláltunk, melyeket fokozott kimotripszin-típusú proteáz termelés jellemezett.
6. Vizsgáltuk különböző szén- és nitrogénforrások, fémek, peszticidek hatását a törzs kimotripszin-típusú proteáz termelésére.
7. Azonosítottuk a törzs által termelt ciklikus lipopeptideket.
8. Elvégeztük a törzs által termelt szurfaktin-izof ormák relatív mennyiségi elemzését.
9. A törzs teljes genomszekvenciájának elemzése során meghatároztuk a törzs taxonómiai pozícióját.
10. Referenciagenommal történő összehasonlítás során azonosítottuk a törzsben található 106 SNP-t és 23 DIP-et. A legtöbb SNP-t a *yqcG* génben detektáltuk, mely a törzs sikeres kompetíciójában játszik szerepet. Az elemzés során az *sfp* génben azonosított DIP helyreállította a gén funkcióját, így a törzs fengicin- és szurfaktin-termelését.

11. Megállapítottuk, hogy a leggyorsabb evolúciós események a törzsben a kompetíciós folyamatokban és a sejtfal-lízisben szerepet játszó génekben történnek.

## **A DOLGOZAT ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK:**

### ***Folyóiratcikkek***

Vágvölgyi Cs, Sajben-Nagy E, **Bóka B**, Vörös M, Berki A, Palágyi A, Krisch J, Skrbíć B, Durišić-Mladenović N, Manczinger L (2013) Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus* strains capable to degrade ethylenethiourea. *Current Microbiology* 66:243-250. **IF=1,72**

**Bóka B**, Manczinger L, Kecskeméti A, Chandrasekaran M, Kadaikunnan S, Alharbi NS, Vágvölgyi Cs, Szekeres A (2016) Ion trap mass spectrometry of surfactins produced by *Bacillus subtilis* SZMC 6179J reveals novel fragmentation features of cyclic lipopeptides. *Rapid Communication in Mass Spectrometry* 30:1581-1590. **IF=1,998**

**Bóka B**, Manczinger L, Kocsubé S, Shine K, Alharbi NS, Khaled J, Münsterkötter M, Vágvölgyi Cs, Kredics L (2019) Genome analysis of a *Bacillus subtilis* strain reveals genetic mutations determining biocontrol properties. *World Journal Of Microbiology & Biotechnology* 35:52. **IF=2,652**



### ***Konferenciakiadványban megjelent absztraktok***

Sajben E, Berki A, **Bóka B**, Kocsubé S, Manczinger L, Vágvölgyi Cs (2010) Influence of culture conditions on the antibiotic production of biocontrol *Bacillus* strains. pp. 121-121. In: Frece, J; Kos, B; Mrša, V (szerk.) Power of Microbes in Industry and Environment Zágráb, Horvátország : Croatian Microbiological Society.

Manczinger L, **Bóka B**, Vörös M, Sajben E, Berki A, Kocsubé S, Vágvölgyi Cs (2011) Influence of culture conditions on the antibiotic production of antagonistic *Bacillus* strains isolated from tomato rhizosphere. Agrár-és Vidékfejlesztési Szemle 1:408-412.

**Bóka B**, Manczinger L, Szekeres A, Vágvölgyi Cs (2013) Breeding of a biocontrol strain of *Bacillus subtilis* In: Škrbić, B (szerk.) Proceedings. 15<sup>th</sup> Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregion Conference on Environment and Health with satellite event LACREMED Conference "Sustainable agricultural production: restoration of agricultural soil quality by remediation" Novi Sad, Szerbia : University of Novi Sad, pp. 87-91., 5 p.

**Bóka B**, Manczinger L, Szekeres A, Vágvölgyi Cs (2013) Breeding of a biocontrol strain of *Bacillus subtilis*In: Škrbić, B (szerk.) 15th Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregion Conference on Environment and Health with satellite event LACREMED Conference "Sustainable agricultural production: restoration of agricultural soil quality by remediation" Novi Sad, Szerbia : University of Novi Sad, pp. 87-91., 5 p.

**Bóka B**, Manczinger L, Szekeres A, Vágvölgyi Cs (2014) Characterisation of streptomycin resistant mutants of biocontrol *Bacillus* strains. Review on Agriculture and Rural Development 3:61-66.

**Bóka B**, Manczinger L, Szekeres A, Bencsik O, Chandrasekaran M, Shine K, Alharbi NS, Vágvölgyi Cs (2016) Characterization of an antibiotic-producing strain of *Bacillus subtilis* isolated from tomato rhizosphere In: Škrbić, B (szerk.) 18<sup>th</sup> Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregional Conference on Environment and Health : Book of abstracts Újvidék, Szerbia : University of Novi Sad, p. 58.

*A dolgozathoz nem kapcsolódó egyéb folyóiratcikkek*

Szekeres A, **Bóka B**, Bencsik O, Sajben E, Manczinger L, Vágvölgyi Cs (2013) Identification of surfactin homologues from a *Bacillus subtilis* strain using ion-trap mass spectrometry. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica 60:88-88.

Vörös M, Pucarević M, Manczinger L, **Bóka B**, Jovanović L, Panković D, Vágvölgyi Cs (2013) Isolation and characterization of *Phanerochaete* strains suitable for bioremediation purposes. Review on Agriculture and Rural Development 2:347-350.

Vágvölgyi Cs, Vörös M, **Bóka B**, Pucarević M, Jovanović L, Panković D, Manczinger, L (2014) Degradation of phenol derivatives by a *Phanerochaete chrysosporium* strain. Review on Agriculture and Rural Development 3:161-164.

Sipos Gy, Prasanna AN, Walter MC, O'Connor E, Bálint B, Krizsán K, Kiss B, Hess J, Varga T, Slot J, Robert R, **Bóka B** és mtsai. (2017) Genome expansion and lineage-specific genetic innovations in the forest pathogenic fungi *Armillaria*. *Nature Ecology & Evolution* 1:1931-1941.

Bartal A, Vigneshwari A, **Bóka B**, Vörös M, Takács I, Kredics L, Manczinger L, Varga M, Vágvölgyi Cs, Szekeres A (2018) Effects of different cultivation parameters on the production of surfactin variants by a *Bacillus subtilis* strain. *Molecules* 23:2675. **IF=3,06**

Kecskeméti A, Bartal A, **Bóka B**, Kredics L, Manczinger L, Shine K, Alharby NS, Khaled JM, Varga M Vágvölgyi Cs, Szekeres A (2018) High-frequency occurrence of surfactin monomethyl isoforms in the ferment broth of a *Bacillus subtilis* strain revealed by ion trap mass spectrometry. *Molecules* 23:2224. **IF=3,06**

Chen L, **Bóka B**, Kedves O, Nagy VD, Szűcs A, Champramary S, Roszik R, Patocskai Z, Münsterkötter M, Huynh T, Indic B, Vágvölgyi Cs, Sipos Gy, Kredics L (2019) Towards the biological control of devastating forest pathogens from the genus *Armillaria*. *Forests* 10:1013 **IF=2,116**

***A dolgozathoz nem kapcsolódó, konferenciakiadványban megjelent absztraktok***

Kredics L, Körmöczi P, **Bóka B**, Tarnai G, Szabó S, Manczinger L és Vágvölgyi C (2014) Development of a four-component liquid soil

biofertilizer: BioeGO. A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2014. évi Nagygyűlése és EU FP7 PROMISE Regional Meeting: Absztraktfüzet, 82 p.

Kredics L, **Bóka B**, Körmöczi P, Szabó S, Tarnai G, Manczinger L, Marik T, Szekeres A, Vágvölgyi Cs (2015) BioeGO: a new soil inoculant based on the combined application of beneficial bacteria and fungi In: Sessitsch, A; Khassidov, A; Glaser, W (szerk.) miCROPe International Symposium: Microbe-assisted crop production - opprotunities, challenges & needs p. 79.

Körmöczi P, **Bóka B**, Szabó S, Tarnai G, Manczinger L, Chandrasekaran M, Shine K, Naiyf A, Vágvölgyi C és Kredics L (2015) Combined application of *Trichoderma*, *Streptomyces* and *Azotobacter* strains in the soil conditioner BioeGO. 17th Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregional Conference on Environment and Health: Program and Abstracts, 78 p.

Kredics L, Körmöczi P, **Bóka B**, Szabó S, Tarnai G, Chandrasekaran M, Manczinger L, Vágvölgyi C (2015) BioeGO: development of a fungalbacterial consortium based soil inoculant for plant growth promotion and biocontrol. 6<sup>th</sup> Congress of European Microbiologists, Abstracts, P 1308.

Kredics L, **Bóka B**, Körmöczi P, Szabó S, Tarnai G, Manczinger L, Marik T, Szekeres A és Vágvölgyi C (2015) BioeGO: a new soil inoculant based on the combined application of beneficial bacteria and fungi. In: miCROPe International Symposium: Microbe-assisted crop production - opprotunities, challenges & needs. p. 219.

Kecskeméti A, Bartal A, **Bóka B**, Manczinger L, Vágvölgyi Cs, Szekeres A (2016) Bakteriális eredetű ciklikus peptidok fragmentációs tulajdonságai IT-MS készülékben In: Gazdag M, Felinger A, Babják M, Drahos L, Horváth K, Janáky T, Móricz Á (szerk.): Elválasztástudományi Vándorgyűlés 2016 Pécs, Magyarország: Magyar Elválasztástudományi Társaság, p. 71.

Kecskeméti A, Bartal A, **Bóka B**, Manczinger L, Vágvölgyi Cs, Szekeres A (2016) Új surfactin molekulák detektálása HPLC-MS technikával. In: Gazdag M, Felinger A, Babják M, Drahos L, Horváth K, Janáky T, Móricz Á (szerk.): Elválasztástudományi Vándorgyűlés 2016 Pécs, Magyarország: Magyar Elválasztástudományi Társaság, p. 51.

**Bóka B**, Kecskeméti A, Bartal A, Manczinger L, Vágvölgyi Cs, Szekeres A (2016) Variations in the yields of surfactin isomers influenced by cultivation parameters. In: Márialigeti K (szerk.) A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2016. évi nagygyűlése és a XII. Fermentációs Kollokvium: absztraktkötet Keszthely, Magyarország : Magyar Mikrobiológiai Társaság (MMT), pp. 11-11., 1 p.

Kecskeméti A, Bartal A, **Bóka B**, Vágvölgyi Cs, Szekeres A (2016) Identification of novel surfactin isomers by ion trap mass spectrometry In: Márialigeti K (szerk.) A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2016. évi nagygyűlése és a XII. Fermentációs Kollokvium: absztraktkötet Keszthely, Magyarország: Magyar Mikrobiológiai Társaság (MMT), pp. 30-30., 1 p.

Kecskeméti A, Bartal A, **Bóka B**, Manczinger L, Rakk D, Vágvölgyi Cs, Szekeres A (2016) Novel fragmentation features of surfactin revealed by ion trap mass spectrometry. In: Škrbić B (szerk.) 18<sup>th</sup> Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregional Conference on Environment and Health: Book of abstracts Újvidék, Szerbia : University of Novi Sad, p. 67.

Bartal A, Kecskeméti A, **Bóka B**, Manczinger L, Vágvölgyi Cs, Szekeres A (2016) Effects of various cultivation parameters on surfactin production of biocontrol *Bacillus subtilis* isolate In: Keszthelyi-Szabó G, Hodúr C, Krisch J (szerk.) International Conference on Science and Technique Based on Applied and Fundamental Research (ICoSTAF'16): Book of Abstracts Szeged, Magyarország: University of Szeged Faculty of Engineering, p. 49 , 1 p.

**Bóka B**, Vizler V, Sipos G, Szekeres A, Vágvölgyi Cs, Kredics L (2016) *In vitro* screening for *Trichoderma* strains with the potential to control *Armillaria* species causing tree root diseases. In: Zhiyanski M; Lazarova S (szerk.) Soil Biodiversity and Ecosystem Services: Meeting Programme and Abstracts, COST Action FP1305 BioLink: Linking belowground biodiversity and ecosystem function in European forests, Szófia, Bulgária: Bulgarian Academy of Sciences, p. 29

Vágvölgyi Cs, **Bóka B**, Sipos Gy, Jakab J, Imre V, Marik T, Kedves O, Chen L, Allaga H, Nagy VD, Khaled J, Alharbi NS, Kredics L (2017) Screening of rhizomorph-associated soil samples for potential

biocontrol agents against forest-damaging *Armillaria* species. In: [Department, of Public Health Faculty of Medicine University of Szeged] (szerk.) 19<sup>th</sup> Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregional Conference on Environment and Health: Program and abstracts Szeged, Magyarország: University of Szeged, Faculty of Medicine, p. 55.

**Bóka B**, Sipos Gy, Marik T, Jakab J, Imre V, Chen L, Kedves O, Nagy VD, Allaga H, Kredics L, Vágvölgyi Cs. (2017) Rhizomorph-associated microbiome as a potential source of biocontrol agents against *Armillaria* root rot. In: Kriiska K, Rosenvald K, Meitern A, Ostonen I (szerk.) *Woody Root 7: 7<sup>th</sup> International Symposium on Physiological Processes in Roots of Woody Plants*, Tartu, Észtország: University of Tartu, p. 86.

Bartal A, Kecskeméti A, **Bóka B**, Manczinger L, Vágvölgyi Cs, Szekeres A (2017) Characterization of novel surfactin isoforms and the effects of different cultivation parameters on their production by *Bacillus subtilis* In: Alapi T, Ilisz I (szerk.) *Proceedings of the 23<sup>rd</sup> International Symposium on Analytical and Environmental Problems* Szeged, Magyarország: Szegedi Tudományegyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, p. 379.

Sipos Gy, **Bóka B**, Kedves O, Chen L, Patocska Z, Műmsterkötter M, Vágvölgyi Cs, Kredics L (2017) A pusztító erdészeti kártevő *Armillaria* (tuskógomba) fajok genetikai vizsgálata és a biológiai védekezés lehetőségei. In: Bidló A, Facskó F (szerk.) *Soproni Egyetem Erdőmérnöki Kar VI. Kari Tudományos Konferencia: a*

konferencia előadásainak és poszttereinek kivonatai Sopron, Magyarország: Soproni Egyetem Kiadó, pp. 16-17., 2 p.

Bartal A, Kecskeméti A, **Bóka B**, Shine K, Alharbi NS, Khaled JM, Vágvölgyi Cs, Szekeres, A (2017) Lipopeptid profiling of a *Bacillus subtilis* strain In: [Department, of Public Health Faculty of Medicine University of Szeged] (szerk.) 19<sup>th</sup> Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregional Conference on Environment and Health: Program and abstracts Szeged, Magyarország: University of Szeged, Faculty of Medicine, p. 14.

Kredics L, **Bóka B**, Chen L, Kedves O, Imre V, Sipos Gy, Vágvölgyi Cs (2017) Isolation, identification and characterization of potential microbial biocontrol agents of *Armillaria* species damaging tree crops. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica 64:139.

Kredics L, **Bóka B**, Chen L, Kedves O, Imre V, Sipos Gy, Vágvölgyi Cs (2017) Fitopatogén *Armillaria* fajok ellen potenciálisan alkalmazható biokontroll ágensek izolálása és azonosítása - Isolation and identification of potential biological control agents of phytopathogenic *Armillaria* species. Mikológiai Közlemények-Clusiana 56:78-80.

Kedves O, **Bóka B**, Chen L, Imre V, Kredics L, Sipos Gy, Vágvölgyi Cs (2017) *Armillaria* elleni védekezésben alkalmazható potenciális biokontroll ágensek foszformobilizáló, valamint sziderofór- és indol-3-acetsav-termelő képessége - Phosphor mobilization and the production of siderophores and indol-3-acetic acid by potential



microbial biocontrol agents of *Armillaria* root rot. Mikológiai Közlemények-Clusiana 56:107-108.

Nagy VD, Marik T, **Bóka B**, Takó M, Szabó S, Tarnai G, Vágvölgyi Cs, Kredics, L (2017) A BioeGO talajoltó készítmény *Trichoderma* komponenseinek extracelluláris poliszacharid-bontó és foszfatáz aktivitásai - Extracellular polysaccharide-degrading and phosphatase activities of the *Trichoderma* components included in the BioeGO soil inoculant. Mikológiai Közlemények-Clusiana 56:121-123.

Kredics L, Sahu N, Huynh T, Kedves O, Merényi Zs, Kovács G, Chen L, **Bóka B**, Champramary S, Patocskai Zs, Münskötter M, Vágvölgyi Cs, Nagy GL, Sipos Gy (2018) Devastating forest pathogens from the genus *Armillaria*: from genomics to biocontrol In: Grenni P, Fernández-López M, Mercado-Blanco J (szerk.) Soil biodiversity and European woody agroecosystem, Róma, Olaszország: Water Research institute, National Research Council of Italy, pp. 48-49., 2 p.

**Bencsik-Bóka B**, Sahu N, Huynh T, Kedves O, Merényi Zs, Kovács G, Chen L, Champramary S, Patocskai Zs, Münskötter M, Vágvölgyi Cs, Nagy GL, Sipos Gy, Kredics L (2018) Classical and 'Omics' approaches towards the biological control of devastating forest pathogens from the genus *Armillaria*. In: A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2018. évi Nagygyűlése és a XIII. Fermentációs Kollokvium: Absztraktfüzet, p. 6

Kredics L, Körmöczi P, **Bóka B**, Racic G, Kedves O, Nagy VD, Chen L, Hatvani L, Szekeres A, Sipos Gy, Pankovic D, Vágvölgyi Cs (2018) Development of biocontrol strategies based on antagonistic

*Trichoderma* strains In: Monostori T (szerk.) 16th Wellmann International Scientific Conference: Book of Abstracts Hódmezővásárhely, Magyarország: Szegedi Tudományegyetem Mezőgazdasági Kar, pp. 11-12., 2 p.

Szekeres A, Bartal A, Vigneshwari A, **Bóka B**, Vörös M, Kredics L, Varga M, Vágvölgyi Cs, Manczinger L (2018) Characterisation of novel surfactins and effects of different cultivation parameters on their productions. In: A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2018. évi Nagygyűlése és a XIII. Fermentációs Kollokvium: Absztraktfüzet p. 59.

Szekeres A, Bartal A, **Bóka B**, Vörös M, Kredics L, Varga M, Manczinger L, Vágvölgyi, Csaba (2018) *Bacillus subtilis* által termelt bioszurfaktánsok azonosítása, termelési tulajdonságai In: Kónya Z, Kiricsi M (szerk.)7. Környezetkémiai Szimpózium p. 17.

**Összesített impakt faktor: 14,606**