

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

FONALAS GOMBÁK MÁSODLAGOSMETABOLIT- TERMELÉSÉNEK TANULMÁNYOZÁSA

BENCsik OTTÓ

TÉMAVEZETŐK:

DR. PAPP TAMÁS, EGYETEMI DOCENS

DR. SZEKERES ANDRÁS, TUDOMÁNYOS FŐMUNKATÁRS

BIOLÓGIA DOKTORI ISKOLA



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

TERMÉSZETTUDOMÁNYI ÉS INFORMATIKAI KAR

MIKROBIOLÓGIAI TANSZÉK

2017

BEVEZETÉS

A *Bipolaris* nemzetség (*Ascomycota*, *Euscomycetes*, *Pleosporales*, *Pleosporaceae*) tagjai imperfekt fonalas gombák, melyek a természetben elsősorban fűféléken (*Poaceae*) fordulnak elő, de növényi maradványokról és talajból is izolálhatók. A nemzetség növénypatogén fajai az elmúlt évszázadban több esetben okoztak jelentős mezőgazdasági károkat. A fertőzés legjellemzőbb tünetei a csírafoltosodás és a levélüszög kialakulása, ugyanakkor egyes fajok a búza és árpa tőrothadását, valamint gyökérdőlését is okozhatják. A *Bipolaris* és a velük közeli rokonságban álló *Curvularia* nemzetség képviselőinek teleomorf, azaz ivaros szaporodásra képes, törzseit korábban egyaránt a *Cochliobolus* nemzetségbe sorolták.

E nemzetségek tagjai sokféle másodlagos metabolitot termelnek, többek között szeszkviterpéneket (pl. sorokinianin), diterpéneket, illetve szeszerterpéneket. Ez utóbbiak csoportjába tartozik a változatos biológiai aktivitással bíró ophiobolinok családja. Napjainkig mintegy 50 biológiailag aktív ophiobolin származékot írtak le. Kezdetben fitotoxinokként azonosították őket, későbbi kutatások azonban rávilágítottak antimikrobiális, baktericid, fungicid, nematocid tulajdonságaikra is. Gombaellenes hatásukat részben a β -1,3-glükán-szintáz gátlásával magyarázzák. Az ophiobolinok családjának legismertebb és legtöbbet vizsgált tagja, az ophiobolin A (OPA) kalmodulin antagonistá hatása már a 80-as években ismertté vált, és azóta is számos vizsgálat tárgyát képezi. Az OPA és néhány származéka, pl. 6-epi-ophiobolin A (6-e-OPA), 3-anhidro-6-epi-ophiobolin A (3-a-6-e-OPA), és ophiobolin I (OPI) citotoxikusnak bizonyult humán eredetű rákos sejtekkel szemben. Más ophiobolinoknak, például az ophiobolin C-nek (OPC) HIV-1 integráz gátló hatásuk van. Az ophiobolinokra, változatos biológiai aktivitásuk révén, egyre fokozódó figyelem irányul mind a növényvédelem, mind a gyógyászat, illetve a biotechnológia területén.

Jelen munkánkban célul tűztük ki az ophiobolinokról rendelkezésre álló ismeretek bővítését, különös tekintettel a termelés körülményeire, biológiai aktivitásukra, valamint stabilitásukra. Több *Bipolaris* törzs esetében megállapítottuk a termelési kinetikákat, majd a kiemelkedő ophiobolin termelők közül a *B. oryzae* SZMC 24163 törzzsel elvégeztük a termelési körülmények optimalizálását. E törzs bevonásával hatékony félpreparatív eljárást dolgoztunk ki az ophiobolin származékok tisztítására. Ezen eljárás eredményeként egy eddig le nem írt ophiobolin származék tisztítását valósítottuk meg számos már ismert ophiobolin származék sikeres tisztítása mellett. A tisztított vegyületek biológiai aktivitásának vizsgálatával információkat nyertünk ezen vegyületek toxicitásáról. Továbbá vizsgáltuk a vegyület család legismertebb tagjának az OPA-nak a stabilitását szerves oldószerekben.

CÉLKITŰZÉSEK

A *Bipolaris* nemzetség tagjai és más rokon fajok számos szeszerterpén típusú másodlagos metabolitot termelnek, melyekre változatos biológiai aktivitásuk miatt, mint új biotechnológiai, gyógyászati és növényvédelmi szempontból ígéretes hatóanyagokra, egyre fokozódó figyelem irányul mind az alap-, mind az alkalmazott kutatások felől. E vegyületek közül is az egyik legérdekesebb a triciklikus szeszerterpén ophiobolinok csoportja. E vegyületcsoport első képviselőit már évtizedekkel ezelőtt azonosították és több szeszerterpén termelésre képes fajt is leírtak, ugyanakkor a termelő szervezetekkel, a termelt metabolitok összetételével és mennyiségével kapcsolatos, részletesebb összehasonlító vizsgálatok eddig nem készültek. Mindezek figyelembevételével munkánk során célkitűzéseink az alábbiak voltak:

1. Az ophiobolintermelés vizsgálata különböző *Bipolaris*, *Curvularia* és *Drechslera* törzsek esetében és a kiemelkedő OPA termelést biztosító törzsek azonosítása.
2. Az OPA és egyéb ophiobolin analógok tisztítására alkalmas félpreparatív HPLC módszer kidolgozása és ophiobolin tisztítás megvalósítása, valamint a tisztított vegyületek tömegspektrometriás jellemzése és NMR vizsgálattal történő azonosítása a legjobb termelési képességű törzs esetében.
3. A legjobb ophiobolintermelő képességgel rendelkező törzs optimális tenyésztési körülményeinek megállapítása, különös tekintettel a leoltás módjára, a tenyésztési hőmérsékletre, valamint az alkalmazott szénforrásra.
4. Az OPA stabilitásának vizsgálata szerves oldószerekben, és az esetleges bomlástermékek folyadékkromatográfiás azonosítása, valamint keletkezésük kinetikájának megállapítása.
5. A tisztított OPA biológiai aktivitásának vizsgálata emlős sejteken.

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Mikrobiológiai módszerek

- folyadék fázisú fermentáció
- fermentáció optimalizálás

Elválasztástechnikai módszerek

- ophiobolinok extrakciója
- ophiobolinok analízise HPLC technikával
- ophiobolinok analízise LC-MS technikával
- ophiobolinok tisztítása félpreatatív NP-HPLC technikával
- ophiobolinok tisztítása félpreatatív RP-HPLC technikával

Szerkezettel összefüggő vizsgálatok

- tömegspektrometriás szerkezetvizsgálat
- szerkezetvizsgálat NMR technikával
- stabilitás-vizsgálat

Biológiai hatásvizsgálatok

- vadkan hímvarsejt mozgékonyági vizsgálatok
- plazmamembrán-polarizáció vizsgálata vadkan hímvarsejteken
- mitokondriummembrán-polarizáció vizsgálata
- ophiobolinok hatásának vizsgálata tumoros sejtvonalakon

EREDMÉNYEK

1. Az ophiobolintermelés vizsgálata különböző *Bipolaris*, *Curvularia* és *Drechslera* törzsek esetében, a kiemelkedő OPA termelést biztosító törzsek azonosítása.

Az ophiobolinok már több mint 50 éve ismertek, a leírt vegyületek száma az utóbbi években robbanásszerűen növekedett. Bár a szakirodalom számos termelő fajt említ, azonban mind a mai napig nem született a termelési kinetikákat részletező mű. Mindezek alapján szükségesnek éreztük különböző *Bipolaris* és *Curvularia*, valamint az ugyancsak közeli rokon *Drechslera* törzsek OPA termelési kinetikájának jellemzését. A vizsgálatba bevont törzsek tenyésztését PDB tápoldatban valósítottuk meg. A termelt ophiobolinok mennyiségét napi mintavételezés mellett vizsgáltuk. Eredményeink alapján négy alapvető termelési kinetikát sikerült elkülönítenünk. Az első szekrécións mintázat (1. típus) esetén az OPA termelés egy maximum értéket mutatott a tenyésztési időszak ötödik és nyolcadik napja között, majd ezt követően a termelt OPA mennyisége lecsökkent és egy állandó szinten maradt. A második

kinetikai mintázatot mutató csoport (2. típus) tagjai esetén a termelt OPA mennyisége az 5-7. napon érte el maximumát, majd ezt követően rövid időn belül drámai mértékű csökkenés következett be és a tenyésztési időszak további részében nem volt detektálható mennyiségű OPA a fermentlevekben. A harmadik (3. típus) csoport tagjai esetében az OPA szekréciónak két maximumot mutatott a vizsgált tenyésztési időszak alatt, melyek általában a 3-5. és a 9-10. napokon jelentkeztek. Ezen típusban a két megfigyelt OPA maximum közel azonos volt. A kinetikai vizsgálatokba bevont törzsek közül az 1. típus tagjai voltak a legnagyobb számban (43%), míg a 2. típus a vizsgált izolátumok 17%-át tartalmazta, a 3-as csoportot csupán 2 izolátum jellemezte. A vizsgált törzsek mintegy 30%-a nem bizonyult OPA termelőnek (4. típus) az alkalmazott tenyésztési körülmények között.

Az OPA termelés kinetikájának meghatározása során sikeresen azonosítottunk több kiemelkedő termelési képességekkel rendelkező törzset, melyek közül a *B. oryzae* SZMC 24163-et választottuk ki további, preparatív célú tisztítási kísérletekre.

2. Az OPA és egyéb ophiobolin analógok tisztítására alkalmas félpreparatív HPLC módszer kidolgozása, és a vizsgálatba bevont kiemelkedő termelési képességű törzsből történő ophiobolin tisztítás megvalósítása, valamint a tisztított vegyületek tömegspektrometriás jellemzése és NMR vizsgálattal történő azonosítása.

A *B. oryzae* SZMC 24163 jelű törzs bevonásával sikeresen megvalósítottuk az ophiobolinok félpreparatív tisztítását négy sarzsban. Az első sarzs esetén az extrakciót követően normál fázisú tisztítást alkalmaztunk első lépésként, majd az egyes frakciókat tovább tisztítottuk fordított fázisú rendszeren. Minden tisztítási lépés végén ellenőriztük az egyes frakciók tisztaságát egy megfelelő analitikai HPLC módszerrel. Az első sarzs tisztítása során sikeresen tisztítottunk öt ophiobolin származékot, melyeket tömegspektrometriai vizsgálat, valamint NMR technikával történő szerkezetvizsgálat révén sikeresen azonosítottunk. Az eredmények kiértékelése során megállapítottuk, hogy az általunk tisztított vegyületek név szerint 6-epi-ophiobolin A, ophiobolin A, ophiobolin I, 3-anhidro-ophiobolin A és 3-anhidro-6-epi-ophiobolin A.

További három sarzs tisztítása során a továbbiakban csak fordított fázisú félpreparatív HPLC technikát alkalmaztunk több egymást követő lépésben. Ezen sarzsok tisztításával a már ismert származékokon felül további öt potenciális ophiobolin analóg került kitisztításra. Ezen vegyületek tömegspektrometriai vizsgálatát elvégeztük, és a kapott eredmények alapján

feltételezhetjük, hogy mindegyikük az ophiobolinok családjába tartozó másodlagos gombametabolit. Ezen sarzsokból tisztított vegyületek közül a rendelkezésre álló anyagmennyiségek alapján egy potenciális ophiobolin származék NMR szerkezetvizsgálatát sikerült megvalósítani. Az ISM-08 jelű vegyület NMR adatai alapján kijelenthetjük, hogy ilyen szerkezeti képlettel a mai napig nem került leírásra az ophiobolinok családjába tartozó másodlagos metabolit.

3. A kiemelkedő ophiobolin termelő képességgel rendelkező *B. oryzae* SZMC 24163 jelű törzsének optimális tenyésztési körülményeinek megállapítása, különös tekintettel a leoltás módjára, a tenyésztési hőmérsékletre, valamint az alkalmazott szénforrásra.

A különböző ophiobolin származékok hatékony tisztítása érdekében az általunk kiválasztott jó termelési képességekkel rendelkező törzs optimális tenyésztési körülményeinek meghatározását végeztük el. Ennek első lépéseként az inokulálás módját vizsgáltuk. Két eltérő leoltási metódust hasonlítottunk össze, a konídiumszuszpenzióval történő leoltást és a micéliummal történő leoltást. A kísérletek eredményeképp megállapítottuk, hogy bár nincs markáns különbség az egyes leoltási eljárások között, azonban a legnagyobb termelt ophiobolin mennyiség érdekében a 2×10^8 végkoncentrációjú konídiumszuszpenzióval való leoltást tartjuk a legalkalmasabbnak. A tenyésztési hőmérséklet ophiobolintermelésre gyakorolt hatását rázatott tenyészetben, négy eltérő hőmérsékleten (20 °C, 25 °C, 28 °C, 37 °C) vizsgáltuk. A legmagasabb vizsgált tenyésztési hőmérsékleten sem növekedést, sem pedig ophiobolintermelést nem tapasztaltunk. Az teljes ophiobolintermelés szempontjából a 28 °C-on történő tenyésztés bizonyult a leghatékonyabbnak, így a továbbiakban ezen hőmérsékletet tekintettük optimálisnak. Az ophiobolintermelés szempontjából optimális szénforrás meghatározása érdekében tíz különböző szénforrást vizsgáltunk (glükóz, fruktóz, maltóz, szacharóz, keményítő, cellobióz, etanol, glicerín, mannitol és Na-acetát). Eredményeink alapján a maltózt tartalmazó tápoldat bizonyult a leghatékonyabbnak, ez eredményezte a legmagasabb termelt ophiobolin mennyiséget.

4. Az OPA szerves oldószerekben történő bomlásának vizsgálata. Az esetleges bomlástermékek folyadékkromatográfiás azonosítása, valamint keletkezésük ütemének megállapítása.

A különböző biológiai aktivitások tesztelését célszerű a lehető legnagyobb tisztaságú vegyületekkel elvégezni. Ezek tisztítása során, valamint rövidebb idejű tárolásakor gyakran szerves oldószerekkel érintkeznek. A biotesztek során érdemes külön figyelmet szentelni arra, hogy a tesztelni kívánt vegyület sem a kísérlet előtt, sem pedig az alatt ne szenvedjen bomlást. Mivel a különböző ophiobolin származékok stabilitásáról a szakirodalom csak szűkszavúan nyilatkozik, ezért a biológiai aktivitások tesztelését megelőzően vizsgáltuk az OPA stabilitását különböző szerves oldószerekben. A vizsgálatba hat különböző oldószert vontunk be (MeOH, EtOH, IPA, MeCN, EtOAc, valamint DMSO). A kísérletek eredményeként megállapítható, hogy az OPA első sorban magasabb hőmérsékleten bomlik, főleg alkoholokban. Sikeresen azonosítottunk két fő bomlásterméket, a 6-e-OPA-t és a 3-a-6-e-OPA-t. Megfigyeltük, hogy különböző szerves oldószerekben történő tároláskor eltérő bomlástermékek jelennek meg.

5. A tisztított OPA biológiai aktivitásának vizsgálata vadkan hímvarsejtekkel szemben, valamint három általunk választott szomatikus sejtvonallal szemben.

Az általunk tisztított OPA-t biológiai aktivitás vizsgálatokba vontuk be. Az OPA ivarsejtekkel szembeni toxicitását vadkan hímvarsejtekkel szemben vizsgáltuk. Eredményeink alapján kijelenthető, hogy az OPA már 1,25 µg/ml koncentrációban teljesen depolarizálta a spermiumok mitokondriumát. Az OPA szomatikus sejtvonalakkal szembeni citotoxicitását három sejtvonal bevonásával vizsgáltuk. Eredményeink alapján kijelenthető, hogy az OPA <48,8 ng/ml koncentrációban toxikus az MNA, 48,8 ng/ml koncentrációban az FFL és 48,8-97,6 ng/ml koncentrációban a PK-15 sejtvonalra.

ÖSSZEFOGLALÁS

Eredményeink összefoglalásul megállapíthatjuk, hogy:

1. Az általunk vizsgált *Bipolaris*, *Curvularia* és *Drechslera* törzsek 4-féle OPA termelési kinetikát mutattak, valamint meghatároztuk a kiemelkedő OPA termelési képességekkel rendelkező törzseket.
2. Kidolgoztunk egy ophiobolinok tisztítására alkalmas módszert, melynek segítségével 10 potenciális ophiobolin származékot tisztítottunk ki.
3. Hat tisztított vegyület esetében meghatároztuk azok szerkezetét NMR technikával.
4. Azonosítottunk egy új ophiobolin származékot, mely a vizsgálatok alapján az OPA 5-hidroxi származéka.
5. Meghatároztuk a *B. oryzae* SZMC 24163 jelű törzs optimális tenyésztési körülményeit, különös tekintettel a leoltás körülményeire, a tenyésztési hőmérsékletre, valamint az alkalmazott szénforrásra.
6. Megállapítottuk az OPA bomlási kinetikáját különböző szerves oldószerekben, valamint meghatároztuk a főbb bomlástermékek keletkezésének ütemét.
7. Vizsgáltuk az OPA és további 4 tisztított származék biológiai aktivitását emlős sejteken.

A DOLGOZAT ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK

Referált folyóiratokban megjelent publikációk

Bencsik, O., Papp, T., Berta, M., Zana, A., Forgó, P., Dombi, Gy., Andersson, M. A., Salkinoja-Salonen M., Vágvolgyi, Cs., Szekeres, A. (2014) Ophiobolin A from *Bipolaris oryzae* perturbs motility and membrane integrities of porcine sperm and induces cell death on mammalian somatic cell lines. *Toxins* 6, 2857-2871. **IF:2,938**

Krizsán, K., **Bencsik, O.**, Nyilasi, I., Galgóczy, L., Vágvolgyi, Cs., Papp, T. (2010) Effect of the sesterterpene-type metabolites, ophiobolin A and B, on zygomycetes fungi FEMS Microbiol. Lett. 313, 135-140 **IF: 2.040**

Pósa, A., Szabó, R., Szalai, Z., Kupai, K., Deim, Z., Murlasits, Zs., **Bencsik, O.**, Szekeres, A., Vágvolgyi, Cs., Balogh, L., Juhász, B., Szilvássy, Z., Varga, Cs. (2016) The effect of acute ophiobolin A treatment on HO-mediated inflammatory processes. *Human & Experimental Toxicology* In press: Paper 10.1177/0960327116658107. 26 p. **IF: 1,604**

A dolgozat témájához kapcsolódó konferencia összefoglalók

Bencsik, O., Szekeres, A., Papp, T., Csernetics, Á., Vágvolgyi, Cs. (2009) Production of OTM1, a biological active extracellular metabolite of filamentous fungi. *Acta Microbiol. et Immunol. Hung.* 56, 11.

Krizsán, K., **Bencsik, O.**, Szekeres, A., Vágvolgyi, Cs., Papp, T. (2009) Antifungal effect of ophiobolins. *Acta Microbiol. et Immunol. Hung.* 56, 193-194.

Bencsik, O., Farkas, A., Szekeres, A., Vágvolgyi, Cs., Papp, T. (2011) Purification and characterisation of different ophiobolin compounds. *Acta Microbiol. et Immunol. Hung.* 58, 125-126.

Krizsán, K., Lengyel, A., **Bencsik, O.**, Papp, T., Vágvolgyi, Cs. (2013) Characterization of the opportunistic human pathogenic *Bipolaris* isolates. *Acta Microbiol. et Immunol. Hung.* 60(S), 168.

Bencsik, O., Berta, M., Szekeres, A., Papp, T., Zana, A., Forgó, P., Andersson, M., Salkinoja-Salonen, M., Vágvolgyi, Cs. (2013) Isolation and toxicological studies of ophiobolin A. *Acta Microbiol. et Immunol. Hung.* 60, 116-117.

Vágvolgyi, Cs., Krizsán, K., Szekeres, A., **Bencsik, O.**, Tóth, D., Papp, T. (2014) Taxonomic and metabolic investigation of *Bipolaris* species. *Review on Agriculture and Rural Developement* 3(S), 160.

Kupai, K., Szalai Z., **Bencsik, O.**, Berta, M., Szekeres A., Vágvolgyi, Cs., Varga Cs., Pósa A. (2014) Ophobolin-A kezelés hatása gyulladásos és antioxidáns mediátorokra patkány vérplazmában és szívben. *Cardiologia Hungarica* 44, 54.

Kovács, B., Szűts, V., **Bencsik, O.**, Szekeres, A., Börcsök, D., Horváth, M., Ötvös, F., Kovács, A., Vágvolgyi, Cs., Halasy, K., Tari, I., Ördög, A. (2014) Physiological effects of ophiobolins on inward rectifier ion channels comparing KAT1 channel in plants to Kir2.x channels in animals. *Acta Physiologica* 211(697) 67.

Szűts, V., **Bencsik, O.**, Szegletes, Zs., Tóth, L., Szűts, M., Kiss, J.G., Rovó, L., Szekeres, A., Vágvolgyi, Cs., Halasy, K. (2015) Altered mechanical parameters and rearranged Kv4.x ion channel expression at the plasma membrane of cardiomyocytes influenced by ophiobolins. *European Journal of Heart Failure* 17(1) 255.

Szűts, V., **Bencsik, O.**, Szegletes, Zs., Ötvös, F., Kiss, J. G., Rovó, L., Váró, G., Halasy, K. (2016) Kv4.x ion channels expression reorganized on cardiomyocytes with altered mechanical and physiological parameters influenced by ophiobolins. *European Journal of Heart Failure* 18(1) 430.

Krizsán, K., **Bencsik, O.**, Szekeres, A., Vágvolgyi, Cs., Papp, T. (2009) Effect of ophiobolin A on opportunistic pathogen fungi. 11th DKMT Regional Conference on Environment and Health, Szeged, Magyarország, 2009.05.15-2009.05.16 Abstracts. p. 109.

Krizsán, K., **Bencsik, O.**, Vágvolgyi, Cs., Papp, T. (2010) Antifungal effects of ophiobolins. 2nd CESC Central European Summer Course on Mycology, Szeged, Magyarország, 2010. Július 4-9

Krizsán, K., **Bencsik, O.**, Vágvolgyi, Cs., Papp, T. (2010) Antimicrobial effects of ophiobolin A. Power of Microbes in Industry and Environment, Malinska, Croatia, 2010. Szeptember 22-25

Bencsik, O., Farkas, A., Szekeres, A., Vágvolgyi, Cs., Papp, T. (2011) Purification and characterisation of a specific group of secondary metabolites. 2nd CEFSE Workshop „Persistent organic pollutants in food and environment”, Novi Sad, Szerbia, 2011. Szeptember 8-10

Szűts, V., Houshmand, N., Szénási, T., **Bencsik, O.**, Jost, N., Virág, L., Papp, J. Gy., Varró, A., Vágvolgyi Cs. Dynamic compartmentalization of the Kv4.x channels, HMGB1 and SAP97 altered during stress effects. Hungarian Molecular Life Science 2013, 2013. Április 5-7, Abstracts p. 151.

Szűts, V., **Bencsik, O.**, Ötvös, F., Bolstad, M., Horváth, A., Halasy, K., Papp, T., Szekeres, A., Vágvolgyi, Cs. (2013) Surface expression of Kv4 ion channels modulated by SAP97 and HMGB1. 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, 2013.05.16-2013.05.17 Book of Abstracts p. 120.

Bencsik, O., Nagy, G., Szekeres, A., Papp, T., Vágvolgyi, Cs. (2013) Liquid chromatographic purification of sesterterpene-type secondary fungal metabolites. 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, 2013.05.16-2013.05.17. Book of Abstracts p. 61.

Vágvolgyi, Cs., Krizsán, K., **Bencsik, O.**, Szekeres, A., Papp, T. (2013) Az ophiobolinok antimikrobiális hatása - Antimicrobial effects of ophiobolins A. Magyar Tudomány Napja Erdélyben. 12. Fórum. Velünk élő tudomány: Közgazdasági és Gazdálkodástudományi Nemzetközi Konferencia. Kolozsvár; Budapest, Románia, 2013.11.22-2013.11.23. Erdélyi Múzeum-Egyesület (EME), pp. 29-31.

Szalai, Z., Kupai, K., **Bencsik, O.**, Berta, M., Csonka, A., Daruka, L., Magyariné Berkó, A., Szabó R., Török, Sz., Kocsis, K., Knapp, L., Farkas, T., Szekeres, A., Vágvolgyi, Csaba., Varga, Cs., Pósa, A. (2013) Ophiobolin - a kezelés hatása vérplazma és szív bal kamra IL-6 és TNF- α tartalmára: MPO és HO enzimek aktivitására patkányban. Magyar Klinikai Farmakológusok XV. Továbbképző Kongresszusa, Debrecen, 2013. 12. 12-14.

Vágvolgyi, Cs., **Bencsik, O.**, Berta, M., Szekeres, A., Papp, T., Zana, A., Forgó, P., Andersson, M., Salkinoja-Salonen, M. (2014) Toxicological examination of ophiobolins produced by *Bipolaris oryzae*. SIHAM 2014: Tenth Annual Meeting of the Society for Indian

Human & Animal Mycologists. Coimbatore, India, 2014.01.10-2014.01.12 Book of abstracts. p. 44.

Vágvölgyi, Cs., **Bencsik, O.**, Szekeres, A., Papp, T., Krizsán, K. (2014) Bipolaris: taxonomic and metabolic investigation of an important fungal genus 16th Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregion Conference on Environment and Health. Arad, Románia, 2014.04.25-2014.04.26 Book of Abstracts. p. 49.

Krisch, J., **Bencsik, O.**, Keller, E., Kerekes, E., Szekeres, A., Vágvölgyi, Cs. Antibacterial and anti-biofilm forming capacity of ophiobolin-A produced by Bipolaris species. III. International Conference on Antimicrobial Research, Madrid, Spanyolország, 2014. Október 1-3, Book of Abstracts p. 46.

Kupai, K., Szalai, Z., **Bencsik, O.**, Berta, M., Szekeres, A., Vágvölgyi, Cs., Varga, Cs., Pósa, A. (2014) Effect of acute ophiobolin A treatment on inflammatory and antioxidant mediators in cardiovascular system. Acute Cardiovascular Care 2014, 3rd Annual Congress of the Acute Cardiovascular Care Association, Genf, Svájc, 18-20 October 2014

Bencsik, O., Berta, M., Papp, T., Páll, O., Zana, A., Forgó, P., Dombi, Gy., Vágvölgyi, Cs., Szekeres, A. (2014) Ophiobolin I folyadékkromatográfiás tisztítása, és szerkezetének azonosítása. Elválasztástudományi Vándorgyűlés 2014 Egerszalók, Magyarország, 2014.11.12-2014.11.14 Végleges program, Előadás- és poszterkivonatok. p. 76.

Szekeres, A., **Bencsik, O.**, Papp, T., Zana, A., Forgó, P., Dombi, Gy. (2015) Purification and identification of five ophiobolin analogues from *Bipolaris oryzae*. 6th Congress of European Microbiologists (FEMS 2015). Maastricht, Hollandia, 2015.06.07-2015.06.11. Paper FEMS-2008.

Bencsik, O., Papp, T., Vágvölgyi, Cs., Szekeres, A. Degradation of ophiobolin A in organic solvents. 18th Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregional Conference on Environment and Health Újvidék, Szerbia, 2016.06.02-2016.06.04 Book of abstracts. p. 68.

Bencsik, O., Papp, T., Vágvölgyi, Cs., Szekeres, A. (2016) Ophiobolins: overview of a rare mycotoxin group. A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2016. évi nagygyűlése és a XII. Fermentációs Kollokvium Keszthely, Magyarország, 2016.10.19-2016.10.21 Absztraktkötet pp. 8-9.

Bencsik, O., Papp, T., Vágvölgyi, Cs., Szekeres, A. (2016) Stability of ophiobolin A in various organic solvents. A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2016. évi nagygyűlése és a XII.

Fermentációs Kollokvium Keszthely, Magyarország, 2016.10.19-2016.10.21 Absztraktkötet. p. 9.

Bencsik, O., Papp, T., Vágvolgyi, Cs., Szekeres, A. (2016) Az ophiobolin A stabilitás-vizsgálata HPLC módszerrel. Elválasztástudományi Vándorgyűlés 2016. Kecskemét, Magyarország, 2016.11.09-2016.11.11. Absztraktfüzet. p. 72.

Szűts, V., **Bencsik, O.**, Szegletes, Zs., Ötvös, F., Váró, G., Véha, A., Szekeres, A., Vágvolgyi, Cs., Halasy, K. (2016) Expression of Kv4.xion channels reorganized on cardiomyocytes with altered mechanical and physiological parameters influenced by ophiobolins. Proceedings of 1st International Conference on Biosystems and Food Engineering. Budapest, Magyarország, 2016.12.08 Paper E132. 1 p.

Pósa, A., Szabó, R., Börzsei, D., Juhász, B., Vágvolgyi, Cs., Szekeres, A., **Bencsik O.**, Szilvássy, Z., Kupai, K., Varga, Cs. (2016) Akut ophiobolin A kezelés hatása a hem-oxigenáz mediálta gyulladásos paraméterek változására patkány modellben. Klinikai Farmakológusok XVIII. Továbbképző Kongresszusa – GCP Tanfolyam, Kölcsey Központ, Debrecen, Magyarország, 2016. december 8-10

Egyéb referált folyóiratban megjelent közlemények

Kálmán, N., **Bencsik, O.**, Pesti, M., Papp, T., Vágvolgyi, Cs. (2009) Characterization and stress responses of genetically modified *Mucor circinelloides* strains. *J Eng Ann Fac Eng Huned* 7, 177-180.

Nagy, G., Csernetics, Á., **Bencsik, O.**, Szekeres, A., Vágvolgyi, Cs., Papp, T. (2012) Carotenoid composition mucoralean fungi. *African Journal of Mycrobology Research* 6(45), 7265-7270.

Krisch, J., **Bencsik, O.**, Papp, T., Vágvolgyi, Cs., Takó, M. (2012) Characterisation of a β -glucosidase with transgalactosylation capacity from the zygomycete *Rhizomucor miehei*. *Bioresour. Technol.* 114, 555-560 **IF: 4,750**

Papp, T., Csernetics, Á., Nagy, G., **Bencsik, O.**, Iturriaga, E.A., Eslava, A.P., Vágvolgyi, Cs. (2013) Canthaxanthin production with modified *Mucor circinelloides* strains. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97(11), 4937-4950. **IF: 3,811**

Hatvani, L., Manczinger, L., Marik, T., Bajkán, S., Vidács, L., **Bencsik, O.**, Szekeres, A., Radulov, I., Nita, L., Vágvolgyi, Cs. (2013) The complete degradation of acetanilide by a consortium of microbes isolated from River Maros. *Acta Biologica Szegediensis* 57(2), 117-120.

Szekeres, A., Lórántfy, L., **Bencsik, O.**, Kecskeméti, A., Szécsy, Á., Mesterházy, Á., Vágvolgyi, Cs. (2013) Rapid purification method for fumonisin B1 using centrifugal partition chromatography. *Food Additives and Contaminants part A* 30(1), 147-155. **IF: 2,341**

Csernetics, Á., Tóth, E., Farkas, A., Nagy, G., **Bencsik, O.**, Manikandan, P., Vágvolgyi, Cs., Papp, T. (2014) Expression of a bacterial β -carotene hydroxylase in canthaxanthin producing mutant *Mucor circinelloides* strains. *Acta Biologica Szegediensis* 58(2), 139-146.

Nagy, G., Farkas, A., Csernetics, Á., **Bencsik, O.**, Szekeres, A., Nyilasi, I., Vágvolgyi, Cs., Papp, T. (2014) Transcription analysis of the three HMG-CoA reductase genes of *Mucor circinelloides*. *BMC Microbiology* 14, 10 **IF: 2,729**

Szekeres, A., Budai, A., **Bencsik, O.**, Németh, L., Bartók, T., Szécsi, Á., Mesterházy, Á., Vágvolgyi, Cs. (2014) Fumonisin measurement from maize samples by high-Performance liquid chromatography coupled with Corona Charged Aerosol Detector. *J. Chrom. Sci.* 52(10), 1181-1185. **IF: 1,363**

Csernetics, Á., Tóth, E., Farkas, A., Nagy, G., **Bencsik, O.**, Vágvolgyi, Cs., Papp, T. (2015) Expression of *Xanthophyllomyces dendrorhous* cytochrome-P450 hydroxylase and reductase in *Mucor circinelloides*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 31(2), 321-336. **IF: 1,532**

Baranyi, N., Despot, D. J., Palágyi, A., Kiss, N., Kocsubé, S., Szekeres, A., Kecskeméti, A., **Bencsik, O.**, Vágvolgyi, Cs., Klarić, M. S., Varga, J. (2015) Identification of *Aspergillus* Species in Central Europe Able to Produce G-type Aflatoxins. *Acta Biologica Hungarica* 66(3), 339-347. **IF: 0,605**

Villangó, Sz., Szekeres, A., **Bencsik, O.**, Láposi, R., Pálfi, Z., Zsófi, Zs. (2016) The effect of postveraison water deficit on the phenolic composition and concentration of the Kékfrankos (*Vitis vinifera* L.) berry. *Scientia Horticulturae* 209, 113-116. **IF: 1,538**

Despot, D. J., Kocsubé, S., **Bencsik, O.**, Kecskeméti, A., Szekeres, A., Vágvolgyi, Cs., Varga, J., Klarić, M. S. (2016) Species diversity and cytotoxic potency of airborne

sterigmatocystin-producing Aspergilli from the section Versicolores. *Science of the Total Environment* 562, 296-304. **IF: 3,976**

Szűts, V., Ötvös, F., **Bencsik, O.**, Váró, G., Jarabin, J. A., Kovács, A., Rovó, L., Kiss G. J., Szénási, T., Véha, A., Szekeres, A., Vágvölgyi, Cs., Halasy, K., Szegletes, Z. (2016) Effects of 6-epi-ophiobolin on mechanical and physiological parameters of cardiomyocytes and on the reorganization and amounts of their kv4.x ion channels. *Acta Biologica Szegediensis* 60(2), 157-166.

Ember, I., Bodor, P., Zsófi, Zs., Pálfi, X., Villangó, S., Pálfi, Z., Ladányi, M., Pásti, G., Szekeres, A., **Bencsik, O.**, Deák, T., Báló, B., Palkovics, L., Foissac, X., Hunter, J. J., Bisztray, G. D. (2016) Impact of Bois noir disease on grapevine performance and vine quality of *Vitis vinifera* L. cv. 'Chardonnay' in Hungary. *Mitteilungen Klosterneuburg* 66(1), 79-83. **IF: 0,176**

Despot, D. J., Kocsubé, S., **Bencsik, O.**, Kecskeméti, A., Szekeres, A., Vágvölgyi, Cs., Varga, J., Klarić, M. S. (2017) New sterigmatocystin-producing species of Aspergillus section Versicolores from indoor air in Croatia. *Mycological Progress* 16, 63-72. 10.1007/s11557-016-1250-4. **IF: 1,572**

Összesített impakt faktor: 30,975

