

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Stefan S. Stošić

**IDENTIFIKACIJA I KARAKTERIZACIJA VRSTA
RODOVA *PENICILLIUM* I *TALAROMYCES* SA
USKLADIŠTENIH PLODOVA VOĆA I POVRĆA
U SRBIJI**

doktorska disertacija

Beograd, 2024

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF BIOLOGY

Stefan S. Stošić

**IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION
OF *PENICILLIUM* AND *TALAROMYCES*
SPECIES FROM STORED FRUITS AND
VEGETABLES IN SERBIA**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2024

Mentori:

Dr Svetlana Živković, naučni savetnik
Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

Dr Milica Ljaljević Grbić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

Članovi komisije:

Dr Miloš Stupar, viši naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

Dr Danijela Ristić, viši naučni saradnik
Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

Dr Željko Savković, naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

Datum odbrane: _____

Zahvalnica

Ova doktorska disertacija je realizovana u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije TR31018 – "Razrada integrisanog upravljanja i primene savremenih principa suzbijanja štetnih organizama u zaštiti bilja", i ugovora br. 451-03-68/2020-14/200010, 451-03-9/2021-14/200010, 451-03-68/2022-14/200010, 451-03-47/2023-01/200010.

Bilo je ovo dugo, izazovno, na momente i teško, ali i oplemenjujuće i zanimljivo putovanje. Na tom putu mnogi ljudi su pomogli da ova disertacija ugleda svetlost dana (i projektora 😊), te najmanje što mogu da uradim je da izrazim svoju zahvalnost.

Hvala mentorki sa Instituta za zaštitu bilja, **dr Svetlani Živković**, naučnom savetniku, za svo znanje, savete i lekcije (profesionalne i životne) koje mi je prenela tokom ovih godina saradnje. Hvala za pomoć u planiranju i izvođenju eksperimenata, oblikovanju radova koji su proizašli iz ove disertacije, kao i za sve korisne korekcije, sugestije i komentare upućene prilikom čitanja ovog rukopisa. Za veliko strpljenje, razumevanje, podršku i verovanje da ćemo ovaj posao privesti kraju.

Hvala mentorki **prof. Milici Ljaljević Grbić**, redovnoj profesorki, na velikom angažovanju i pomoći, na svim korisnim savetima i predlozima tokom pisanja ove disertacije, kao i za svu pruženu podršku i razumevanje na tom putu.

Zahvaljujem se i kolegama - **dr Danijeli Ristić**, **dr Milošu Stuparu** i **dr Željku Savkoviću**, na pažljivom čitanju teksta disertacije i svim sjajnim savetima i sugestijama za ispravku koje su doprineli poboljšanju njene završne verzije.

Hvala **prof. Jeleni Vukojević**, redovnoj profesorki Biološkog fakulteta u Beogradu, na šansi da postanem mikolog. Profesorka je bila osoba koju je krasio vrhunski profesionalizam i odmerenost u prenošenju znanja i kritici. Bila je Profesor sa velikim slovom P, neko ko je uvek iskazivao poštovanje prema sagovorniku (uključujući i prema nama, studentima). Ostaće večita inspiracija i uzor.

Hvala **dr Veljku Gavriloviću**, naučnom savetniku, na pruženoj prilici da budem deo naučnog projekta, na pozitivnoj atmosferi u laboratoriji i na tome što je bio „dobri duh“ Instituta za zaštitu bilja.

Veliku zahvalnost želim da izrazim koleginicama sa Instituta za zaštitu bilja, **dr Ani Anđelković**, **dr Jovani Blagojević** i **dr Aleksandri Savić**, za to što smo zajedno prolazili kroz izazove izrade doktorata, za razumevanje, stalnu podršku i prijateljsku kritiku, za sve zajedničke obroke i kafenisanja.

Zahvalnost zaslužuje i kolegunica **dr Dušici Delić**, sa Instituta za zemljište, za to što je takođe verovala u mene i podržavala me na ovom putu, i „jedvačekanje“ (ovo nije greška, *prim. aut.*) da dođe datum odbrane.

Hvala **koleginicama i kolegama sa mog matičnog instituta** i **sa Katedre za algologiju i mikologiju** Biološkog fakulteta u Beogradu.

Hvala nekadašnjoj mentorki u Regionalnom centru za talente u Vranju, **mr Marici Jovanović**, za razvijanje mog interesovanja za biološke nauke i ljubavi prema toj veličanstvenoj nauci o živim bićima.

Hvala i nekadašnjoj direktorki Regionalnog centra za talente u Vranju, **Tatjani Stošić** (mojoj „medijskoj majci“) za prepoznavanje mog potencijala za bavljenje naukom i njegovo podsticanje. Za to što je uvidela da volim da pričam i nastupam, što je to uvek podsticala i stimulisala, kroz brojna ugovorena gostovanja po lokalnim vranjanskim medijima. Za to što je svaku našu dečju inicijativu za neki projekat ili akciju podržala i realizovala zajedno sa nama.

Hvala mnogo mojim prijateljima-Ekoekipi: **Tijani Đenader** (devoj. **Milekić**), **dr Jovani Pantović**, **Nadi Nikolić**, **dr Ivanu Nikoliću**, **dr Ivani Stevanoski** (devoj. **Janković**), **Minji Dragošanić** i **Bojanu Stanisavljeviću**, za mnoge godine druženja, pozitive i osmeha, za ljubav i podršku, za to što ste druga porodica koju sam sasvim slučajno izabrao i što sam se sa vama uvek osećao kao kod kuće.

Beskrajno hvala prijateljima - **Urošu Zlatkoviću**, **Marku T. Stošiću** (cimeru), **dr Andrei Kosovac**, **Ivani Vlahović** i njenom **Felipeu**, na svakom osmehu i zagrljaju, na svakom obroku i piću koji smo podelili svih ovih godina, za sve posete i posvete. Uz vas su i ovo studiranje i život bili mnogo lakši i lepši.

Posebno hvala **teta Cici (Milici) Milekić** i **čika Buci (Branimiru) Milekiću**, ali i **ostalim Milekićima**, za to što su me prihvatili kao člana porodice, ugodili i pomogli nebrojeno puta.

Veliku zahvalnost dugujem i **porodici Đorđević-Maran - Milošu Đorđeviću**, **Jovani Đorđević** i **Vesni Maran**, za konstantnu podršku, brigu, ljubav, pomoć i ohrabrivanje. Milošu posebno hvala i za pomoć oko tehničkog aspekta pripreme kompozitnih slika i sve savete, i one „male trikove velikih majstora“ u programima za grafičku obradu slika.

Na kraju, beskrajno hvala **mojoj porodici**, **majci Ljubinki** i **ocu Srboljubu** i **mom bratu Marku**, jer su oni moj izvor ljubavi, podrške i snage. Hvala za svaku reč, veru, suzu, osmeh, poljubac i zagrljaj.

Ovaj doktorat posvećujem mojim najdražima - Ljubinki, Srboljubu i Marku Stošiću.

Identifikacija i karakterizacija vrsta rodova *Penicillium* i *Talaromyces* sa uskladištenih plodova voća i povrća u Srbiji

SAŽETAK:

Voće i povrće predstavlja značajan deo poljoprivrednih proizvoda, i njihovo konzumiranje je deo izbalansirane ljudske ishrane, jer su plodovi bogati vodom, ugljenim hidratima, vlaknima i mikronutrijentima. Gljive iz rodova *Penicillium* i *Talaromyces* predstavljaju neke od najznačajnijih skladišnih patogena plodova voća i povrća. Cilj ovog istraživanja bio je izolacija, identifikacija i karakterizacija vrsta iz navedenih rodova sa uskladištenih plodova voća i povrća u našoj zemlji. Primenjen je polifazni pristup, kombinacija tradicionalnih mikrobioloških, molekularnih, filogenetskih i fitopatoloških metoda. Sa 14 biljnih domaćina (plodovi jabuka, krušaka, dunja, nektarina, limuna, mandarina, pomorandže, grejpfruta, kivija, paradajza, lukovica belog i crnog luka, korena šargarepe i krtola krompira) dobijeno je 173 izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp. Identifikovano je 9 vrsta gljiva: *Penicillium allii*, *P. crustosum*, *P. digitatum*, *P. expansum*, *P. italicum*, *P. olsonii*, *P. polonicum*, *Talaromyces minioluteus*, *T. rugulosus*. Sve navedene vrste su potvrđene kao fitopatogeni na izvornim domaćinima, osim izolata sa krtola krompira. Rezultati ovog rada su prve detekcije u svetu sledećih vrsta gljiva kao skladišnih fitopatogena: *T. minioluteus* na plodovima kruške, dunje, paradajza, pomorandže i lukovica crnog luka; *T. rugulosus* na plodovima kruške i limuna; *P. italicum* na lukovicama belog luka. Nalaz *P. olsonii* kao patogena ploda paradajza je prvi za područje čitave Evrope. U prve fitopatogene nalaze u Srbiji spadaju i: *P. expansum* na plodovima nektarine, grejpfruta, kivija, limuna, paradajza, pomorandže, kruške i korenu šargarepe; *P. allii* na lukovicama belog i crnog luka; *P. digitatum* na plodovima limuna; *P. polonicum* na lukovicama belog luka i plodovima limuna i paradajza.

KLJUČNE REČI: multigenska karakterizacija, patogenost, *Penicillium*, plava trulež, plodovi, polifazni pristup, *Talaromyces*, voće i povrće, zelena trulež

NAUČNA OBLAST: Biologija

UŽA NAUČNA OBLAST: Algologija i mikologija

UDK:

Identification and characterization of *Penicillium* and *Talaromyces* species from stored fruits and vegetables in Serbia

ABSTRACT:

Fruits and vegetables are a significant part of agricultural products, and their consumption is a part of a balanced human diet, considering that they are rich in water, carbohydrates, fiber, and micronutrients. Fungi from the genera *Penicillium* and *Talaromyces* are some of the most significant postharvest pathogens of fruits and vegetables. The aim of this research was to isolate, identify, and characterize species from the mentioned genera found on stored fruits and vegetables in our country. A polyphasic approach was applied, combining conventional microbiological, molecular, phylogenetic, and phytopathological methods. One hundred and seventy three isolates of *Penicillium* and *Talaromyces* spp. were obtained from 14 plant hosts (apples, pears, quinces, nectarines, lemons, mandarins, oranges, grapefruits, kiwis, tomatoes, bulbs of onion and garlic, carrot roots, and potato tubers). A total of 9 fungal species were identified: *Penicillium allii*, *P. crustosum*, *P. digitatum*, *P. expansum*, *P. italicum*, *P. olsonii*, *P. polonicum*, *Talaromyces minioluteus*, *T. rugulosus*. These species were confirmed as phytopathogens on their originating hosts, except the isolates from potato tubers. The results of this study represent the first detections in the world as postharvest pathogens: *T. minioluteus* on pear, quince, tomato, orange, and onion bulbs; *T. rugulosus* on pear and lemon fruits; *P. italicum* on garlic bulbs. The finding of *P. olsonii* as a tomato fruit pathogen is the first for the entire Europe. First findings as phytopathogens in Serbia also includes: *P. expansum* on nectarine, grapefruit, kiwi, lemon, tomato, orange, pear fruits, and carrot roots; *P. allii* on onion and garlic bulbs; *P. digitatum* on lemon fruits; *P. polonicum* on garlic bulbs, and lemon and tomato fruits.

KEYWORDS: blue mold, green mold, fruits and vegetables, multigenic characterization, pathogenicity, *Penicillium*, polyphasic approach, seed-bearing structure, *Talaromyces*

SCIENTIFIC FIELD: Biology

SCIENTIFIC SUBFIELD: Algology and Mycology

UDK:

Lista korišćenih skraćenica i simbola

CREA – kreatin-saharozni agar/podloga sa kreatinom i saharozom (*eng. Creatin sucrose agar*)

CYA – Čapekov autolizatni agar sa ekstraktom kvasca (*eng. Czapek Yeast Autolysate agar*)

CYAS – Čapekov autolizatni agar sa ekstraktom kvasca obogaćen sa NaCl (5%)

DNK – dezoksiribonukleinska kiselina

RNK – ribonukleinska kiselina

EU – Evropska Unija

ITS – interni transkribovani region (*eng. internal transcribed spacer*)

MEA – podloga sa sladnim ekstraktom/malt agar (*eng. Malt Extract Agar*)

NCBI – Nacionalni centar za biotehnoške informacije Sjedinjenih Američkih Država (*eng. National Center for Biotechnology Information*)

PG-aza/-e – poligalakturonaza/-e

PCR – lančana reakcija polimeraze/-izacije (*eng. Polymerase Chain Reaction*)

SZO – Svetska zdravstvena organizacija (*eng. World Health Organization, WHO*)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Bolesti biljaka u skladištima.....	1
1.2. Gljive iz rodova <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i> i njihov značaj.....	2
1.3. <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i> spp. kao biljni patogeni, njihov ekonomski značaj i patogeneza na plodovima voća i povrća	5
1.4. <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i> – mikotoksini i drugi negativni uticaji na zdravlje ljudi i životinja.....	9
1.5. Taksonomija i sistematika roda <i>Penicillium</i>	10
1.6. Taksonomija i sistematika roda <i>Talaromyces</i>	14
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	17
3. MATERIJAL I METODE	18
3.1. Sakupljanje uzoraka, izolacija i dobijanje monosporičnih izolata gljiva.....	18
3.2. Proučavanje morfoloških karakteristika izolata <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i> spp.	19
3.3. Proučavanje mikromorfoloških odlika izolata <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i> spp.	19
3.4. Uticaj temperature na izgled i rast izolata <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i> spp.....	20
3.5. Metode molekularne identifikacije i karakterizacije	20
3.5.1. Ekstrakcija DNK izolata gljiva.....	20
3.5.2. Lančana reakcija polimeraze	21
3.5.3. Razdvajanje umnoženih produkata u električnom polju i njihova vizuelizacija	21
3.5.4. Sekvenciranje, analiza i deponovanje sekvenci.....	23
3.5.5. Konstrukcija filogenetskih stabala.....	23
3.6. Provera patogenosti dobijenih monosporičnih izolata gljiva.....	28
3.7. Statistička analiza	29
4. REZULTATI	30
4.1. Uzorkovanje i simptomi plavih i zelenih truleži na plodovima voća i povrća u Srbiji	30
4.2. Morfološke odlike izolata <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i> spp. na hranljivim podlogama i preliminarna identifikacija	31
4.3. Uticaj temperature na porast izolata <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i> spp.....	59
4.4. Molekularna identifikacija izolata	62
4.5. Filogenetske analize	63
4.6. Patogenost ispitivanih izolata <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i> spp.....	77
4.6.1. Patogenost izolata <i>P. expansum</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>T. minioluteus</i> i <i>T. rugulosus</i> na plodovima kruške	77
4.6.2. Patogenost izolata <i>P. expansum</i> i <i>T. minioluteus</i> na plodovima dunje	81
4.6.3. Patogenost izolata <i>P. expansum</i> , <i>P. polonicum</i> , <i>P. digitatum</i> i <i>T. rugulosus</i> na plodovima limuna	83
4.6.4. Patogenost izolata <i>P. expansum</i> i <i>T. minioluteus</i> na plodu pomorandže	85

4.6.5. Patogenost izolata <i>P. expansum</i> , <i>T. minioluteus</i> , <i>P. polonicum</i> i <i>P. olsonii</i> na plodovima paradajza	87
4.6.6. Patogenost izolata <i>P. allii</i> , <i>P. polonicum</i> i <i>P. italicum</i> na lukovicama belog luka	90
4.6.7. Patogenost izolata <i>T. minioluteus</i> i <i>P. allii</i> na lukovicama crnog luka	92
4.6.8. Patogenost izolata <i>P. expansum</i> na plodovima grejpfruta, jabuke, kivija, mandarine i nektarine i korenu šargarepe.....	94
4.6.9. Patogenost izolata <i>T. minioluteus</i> na krtolama krompira.....	98
5. DISKUSIJA	99
5.1. Simptomi, diverzitet i distribucija izolovanih vrsta <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i>	99
5.2. Morfološke odlike izolata vrsta <i>Penicillium/Talaromyces</i> i njihova fenotipska varijabilnost	102
5.3. Odlike izolata vrsta <i>Penicillium/Talaromyces</i> na različitim temperaturama inkubacije	104
5.4. Molekularna identifikacija i karakterizacija izolata <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i> spp.....	105
5.5. Patogenost detektovanih vrsta <i>Penicillium</i> i <i>Talaromyces</i>	106
6. ZAKLJUČAK.....	113
7. LITERATURA.....	114
8. PRILOG 1.....	148

1. UVOD

1.1. Bolesti biljaka u skladištima

Sveže voće i povrće predstavlja značajan deo poljoprivrednih proizvoda, i njihovo konzumiranje je sastavni deo izbalansirane ljudske ishrane. Plodovi voća i povrća su bogati vodom, ugljenim hidratima, vlaknima i mikronutrijentima, zbog čega su ključni u svakodnevnoj ljudskoj ishrani. Međutim, ove karakteristike ih istovremeno čine privlačnom „metom“ za razvoj brojnih mikroorganizama koji u skladištima mogu prouzrokovati njihovo kvarenje, truljenje i propadanje (Snowdon 1990; Barkai-Golan 2001).

Biljne bolesti koje se javljaju nakon žetve/berbe nazivaju se skladišnim (*eng. postharvest diseases*), a nauka koja se bavi njihovim proučavanjem je skladišna/postžetvena fitopatologija. Patogeni mikroorganizmi mogu inficirati sve biljne organe, uključujući plodove, semena, korene, krtole i lukovice, izazivajući njihovo truljenje i propadanje. Infekcija se može ostvariti za vreme vegetacije (u polju/voćnjaku), u toku branja ali i kasnije tokom skladištenja (Vico i Duduk 2020). Biljni patogeni su prisutni u zemljištu kao stalni rezidenti ove sredine, na biljnim delovima (listovi, cvetovi, izdanci, plodovi itd.) ili na biljnim ostacima nakon branja/žetve (Barkai-Golan 2001). Putem vazdušnih strujanja, kiše, preko insekata, ali i aktivnostima ljudi tokom branja voća i povrća, spore gljiva mogu dospeti na plodove odakle bivaju prenesene u prostorije za pakovanje, magacine i hladnjače. Nije retko da su neke od navedenih gljiva stalni “stanovnici” skladišnih prostorija, gde opstaju u vazduhu u vidu bioaerosola, na zidovima, mašinama, opremi i kutijama/gajbicama, što takođe predstavlja izvore inokuluma (Sanderson i Spotts 1995; Amiri i Bompeix 2005).

Čuvanje poljoprivrednih proizvoda nakon berbe/žetve odvija se u posebnim prostorijama – magacinima, skladištima, hladnjačama i sl., koja moraju zadovoljiti neke osnovne uslove pravilnog skladištenja (temperatura i vlažnost vazduha, svetlost itd.) kako bi se maksimalno zadržao njihov kvalitet i sprečilo propadanje (Barkai-Golan 2001). Način i uslovi čuvanja mogu varirati u zavisnosti od vrste biljnog proizvoda koji se skladišti (Snowdon 1990).

Iako više nisu povezani sa matičnom biljkom, plodovi su i dalje živi organizmi, jer se tokom skladištenja u njima nastavljaju metabolički procesi koji vode ka zrenju - respiracija, razlaganje hlorofila i sinteza novih pigmenata, degradacija komponenti ćelijskog zida i sinteza prostih šećera, kiselina i isparljivih jedinjenja, produkcija etilena, opadanje nivoa fitoanticipina i fitoaleksina itd. (Alkan i Fortes 2015; Pott, Vallarino, i Osorio 2020). Istovremeno, odvajanjem od matične biljke plodovi (i drugi biljni organi) više ne ostvaruju vezu sa imunskim sistemom biljke, i njihova otpornost prema patogenima postepeno slabi (Eckert i Ratnayake 1983). Odvijanje ovih metaboličkih procesa u biljnim organima itekako ima uticaj na podložnost napadu patogenih organizama. Dva verovatno najvažnija i usko povezana procesa koji utiču na sazrevanje ali i osetljivost biljnih organa prema patogenima su disanje i produkcija etilena. Disanje kod biljaka je proces u kome se složeni organski molekuli (ugljeni hidrati, proteini, masne kiseline itd.) razlažu na jednostavnije komponente pri čemu se u tom procesu koristi kiseonik a oslobađa ugljen-dioksid. U odnosu na tok disanja i produkciju etilena, plodovi voća i povrća se mogu grupisati u dve kategorije. Prvu grupu karakteriše intenzivno disanje i stvaranje etilena nakon berbe, čime se nastavlja proces zrenja (npr. avokado, banana, breskva, jabuka, kajsija, kruška, mango, papaja, paradajz, šljiva). Kod druge grupe plodova nema intenzivnog disanja i sinteze etilena nakon branja, što znači da zrenje prestaje njihovom berbom (ananas, citrusno voće, grožđe, jagoda, smokva) (Sommer 1982). Dosta patogena u procesu infekcije podstiče ova dva fiziološka procesa, sa ciljem bržeg zrenja i slabljenja samog domaćina (Lelievre i dr. 1997; Barkai-Golan 2001; Alkan i Fortes 2015).

Podaci iz literature ukazuju da skladišne bolesti mogu dovesti do gubitaka od 10 do 30% ukupnog prinosa useva u razvijenim zemljama, dok u zemljama u razvoju ti gubici mogu biti i veći (Agrios 2005; Bautista-Baños 2014). Neki od razloga za štete su nepostojanje odgovarajuće infrastrukture potrebne za dugoročno čuvanje voća i povrća (hladnjače i magacini/skladišta sa kontrolisanom atmosferom), kao i opšti klimatski uslovi – u velikom broju ovih zemalja klima je toplija i/ili vlažnija, što pogoduje bržem širenju infekcije i razvoju bolesti. Faktori koji utiču na infekciju plodova patogenima su ambijentalni uslovi u skladištima: sastav atmosfere, pH sredine, prisustvo/odsustvo svetlosti itd. (Wang i dr. 2021). Na intenzitet infekcije i obim gubitaka utiče i fiziološko stanje biljnih organa (npr. tip i stepen zrelosti plodova, nivo šećera, procenat vode, produkcija etilena, oštećenja/oslabljenost nastala delovanjem nekog abiotičkog, biotičkog ili antropogenog faktora), i sastav autohtonih populacija mikroorganizama koji su deo epifitne mikrobiote plodova (Zagory 1999; Wang i dr. 2021).

Štete nastale delovanjem skladišnih patogena mogu biti dvojake, u kvantitetu i/ili kvalitetu. Kvantitativne štete podrazumevaju da inficirani plodovi nisu više upotrebljivi u sirovom ili prerađenom stanju, te postaju otpad i gubitak za proizvođače i distributere. Štete u kvalitetu obuhvataju slučajeve kada je bolest zahvatila površinske delove plodova ili drugih biljnih organa, te oni postaju nepoželjni za kupca i gube tržišnu vrednost, ali se zdravi delovi plodova mogu koristiti (Vico i Jurick 2012). Pored direktnih gubitaka, skladišni patogeni često proizvode i mikotoksine, sekundarne metabolite koji mogu imati ozbiljno negativno dejstvo po zdravlje ljudi i životinja (Bennett i Klich 2003). U cilju smanjenja gubitaka neophodno je primeniti odgovarajuće mere kontrole patogena i zaštite uskladištenih plodova voća i povrća.

Među najznačajnije i najčešće patogene uskladištenog voća i povrća navode se gljive i bakterije. Neke od najvažnijih bakterija su iz rodova *Pectobacterium*, *Clavibacter*, *Xanthomonas*, *Ralstonia* i *Pseudomonas*. Fitopatogene gljive prozrokovaci bolesti u skladištima obuhvataju vrste iz rodova: *Aspergillus*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Botryosphaeria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Geotrichum*, *Fusarium*, *Monilinia*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* (Barkai-Golan 2001; Vico i Duduk 2020). Najčešće simptomi koje izazivaju ove vrste gljiva i bakterija na inficiranom voću i povrću u skladištima su: plesnivost, trulež, pegavost, krastavost i dr. (Snowdon 1990, 1991).

1.2. Gljive iz rodova *Penicillium* i *Talaromyces* i njihov značaj

Penicillium je rod koji prema poslednjoj inventarizaciji broji 483 vrste. Jedna od tipičnih karakteristika ovog roda je konidiogeni aparat u vidu metlice, koja može biti jednostavna, nerazgranata (monoverticilatna), ili sa dva, tri ili više stepena grananja (bi-, ter- ili kvaterverticilatna) (Houbraken i dr. 2020). Rod *Penicillium* je i dobio naziv jer konidiofori liče na slikarsku četkicu (lat. *penicillus*). Predstavlja jedan od najpoznatijih rodova gljiva, zahvaljujući Aleksandru Flemingu koji je otkrio penicilin, sekundarni metabolit sa antibiotskim svojstvima koji sintetiše vrsta *P. rubens* (u literaturi označavana i kao *P. chrysogenum*, *P. notatum*) (Fleming 1929; Houbraken, Frisvad, i Samson 2011b). Flemingovo otkriće penicilina započelo je novu eru u medicini i predstavljalo je veliki korak napred ka uspešnijem lečenju bakterijskih infekcija (Bentley 2000).

Veliki broj vrsta ovog roda ima kosmopolitsku distribuciju, i kolonizuju različite sredine – vodu, vazduh, zemljište, biljke, zatvorene prostore, namirnice koje se koriste u ishrani životinja i ljudi. Njihova osnovna uloga u prirodi je razlaganje organske materije – naime, zastupljenost vrsta roda *Penicillium* u zemljišnim zajednicama gljiva je prilična, i u proseku iznosi 21%, sa maksimalnom učestalošću do čak 49% u pojedinim ekosistemima (Christensen, Frisvad, i Tuthill 2000; Visagie i dr. 2014b). Zbog ovih osobina, jedan deo *Penicillium* spp. istovremeno izaziva i značajne ekonomske štete u poljoprivredi i prehrambenoj industriji, uzrokujući kvarenje namirnica i truljenje i propadanje plodova voća, povrća i žitarica (Frisvad i Samson 2004; Pitt i Hocking 2009;

Samson i dr. 2010). Vrste ovog roda su značajne i u procesima kolonizacije i biodeterioracije objekata kulturnog nasleđa i umetničkih dela izgrađenih od najrazličitijih materijala: papira, tekstila, slikarske boje, kože, drveta, različitih vrsta kamena itd. (Unković i dr. 2018; Savković i dr. 2021; Mascaro, Pellegrino, i Palermo 2021). Džon Pitt, važan naučnik u istraživanju roda *Penicillium* i srodnih rodova, u svom monografskom delu (1979) navodi reči Čarlsa Toma (Charles Thom), drugog istraživača ovog roda, koji je napisao “Gljive roda *Penicillium*, zajedno sa gljivama iz rodova *Aspegillus* i *Mucor* dele tu sudbinu da se smatraju štetočinama. Oni uzrokuju truljenje voća,... propadanje uskladištenog zrnevlja,... kontaminiraju naše ostave,...menjaju boje tekstilu, drvetu,... kontaminiraju papir i knjige. U laboratoriji oni mogu da uzrokuju zagađenje u radu sa bilo kojim kulturama – bakterijama, gljivama, biljkama”. Međutim, kako se naše znanje o ekologiji povećavalo u potonjim godinama, postalo je jasno da je destruktivna priroda *Penicillium* spp. istovremeno i velika uloga u prirodi – razlagači velikog dela organske materije. Da parafraziramo Voltera: “da nema *Penicillium*-a, trebalo bi ih izmisliti”; jer u odsustvu ovih gljiva,... svet bi se udavio u organskom otpadu” (Pitt 1979).

Istovremeno, vrste ovog roda ostvaruju i izuzetno pozitivan uticaj u mnogim ljudskim delatnostima – pored pomenutog penicilina, imaju primenu u industriji hrane, za proizvodnju sireva (npr. *Penicillium camemberti* i *P. roqueforti* za kamember, odnosno rokfor) i suvih kobasica (*P. nalgiovense*) (Thom 1906; López-Díaz i dr. 2001; Giraud i dr. 2010; Ludemann i dr. 2010; Ropars i dr. 2012; Bodinaku i dr. 2019). U biotehnologiji se koristi njihova sposobnost proizvodnje enzima kako bi se sintetisale različite vrste ksilaza, celulaza i hemicelulaza, lipaza i drugih grupa enzima (Chávez, Bull, i Eyzaguirre 2006; Li i dr. 2007; Gutarra i dr. 2009; Terrasan i dr. 2010; Passos, Pereira, i Castro 2018; Terrone i dr. 2018; Meena i dr. 2018; Abd El-Rahim i dr. 2020; Méndez-Líter i dr. 2021; Ametefe i dr. 2022). Pored enzima, *Penicillium* spp. sintetišu veliki broj sekundarnih metabolita, od kojih neki imaju osobine pigmenata, pa se ispituje njihova mogućnost primene kao boja u industriji tekstila, kože, papira i drvne građe (Morales-Oyervides i dr. 2020). Konstantno se istražuje potencijal vrsta ovog roda i u drugim biotehnološkim procesima, poput biotransformacije i sinteze nanočestica (Toghueo i Boyom 2020).

Osim penicilina, izolovani su i drugi lekovi: kompaktin (mevastatin/mevistatin), mikofenolna kiselina, griseofulvin. Kompaktin pripada statinima, grupi lekova koji snižavaju nivo holesterola. Njegovo otkriće od strane dve nezavisne istraživačke grupe, iz *P. citrinum* (Endo, Kuroda, i Tsujita 1976) i *P. brevicompactum* (Brown i dr. 1976) utrlo je put ka daljim istraživanjima ovog jedinjenja i njegovih derivata u farmaciji, kao i otkriću molekula sa sličnim dejstvom kod drugih vrsta gljiva (lovastatin iz *Monascus ruber*) (Beekman i Barrow 2014). Mikofenolna kiselina je prvobitno izolovana iz *P. brevicompactum*, a sada se primenjuje kao imunosupresivni lek radi sprečavanja odbacivanja transplantiranih organa (bubreg, srce, jetra), i kao medikament u lečenju određenih autoimunih bolesti (Bentley 2000; Kiang i Ensom 2018). Griseofulvin je otkriven pre više decenija, i dugo je primenjivan u lečenju gljivičnih infekcija kože (Oxford, Raistrick, i Simonart 1939; Finkelstein, Amichai, i Grunwald 1996). Njegova upotreba se smanjuje poslednjih godina zbog neželjenih efekata ali i dalje je na listi esencijalnih lekova SZO (Frisvad i dr. 2004; WHO 2019). Osim navedenih, etabliranih medikamentata, stalno su aktuelne studije koje proučavaju brojne sekundarne metabolite vrsta ovog roda, i njihovo antivirusno, antidijabetsko, antifibrozo, protivinflamatorno, antimikrobno, antioksidativno, antiparazitsko, imunosupresivno, neuroprotektivno, protiv tumorsko dejstvo, kao i efekte protiv gojaznosti (Nicoletti i dr. 2008; Toghueo i Boyom 2020).

S obzirom na to da su vrste ovog roda univerzalni razlagači u prirodi, a jedan deo njih može da opstaje u uslovima visokog saliniteta (*P. commune*, *P. glabrum*, *P. jensenii*, *P. restrictum*, *P. simile*, *P. thomii*), brojna istraživanja *Penicillium* spp. usmerena su ka tome da se njihov potencijal razgradnje iskoristi u procesima bioremedijacije vode i zemljišta, za lakše i čistije uklanjanje opasnih materija – teških metala, policikličnih aromatičnih ugljovodnika, fenola i drugih hemikalija (Dhakar, Sharma, i Pandey 2014). Pored razlaganja organske materije, jedna od najvažnijih uloga

Penicillium spp. u zemljištu je pospešivanje rastvorljivosti fosfora, čime on postaje lakše dostupan biljkama (Khan i dr. 2010). Određene vrste ovog roda mogu živeti kao endofite, i u tom simbiotskom odnosu dovode do poboljšanja razvoja biljaka kroz sintezu fitohormona (giberelina i indol-3-sirćetne kiseline), sintezu aminokiselina (prolin, aspartat, lizin), produkciju različitih enzima (katalaza, peroksidaza, polifenoloksidaza) i sekundarnih metabolita čije je dejstvo ublažavanje biljnog stresa (izoflavoni) (Whitelaw 1999; Leitão i Enguita 2016; Chaudhary i dr. 2018; Toghueo i Boyom 2020). Već je pomenuto kako jedan deo vrsta roda *Penicillium* mogu biti vrlo značajni fitopatogeni, a sa druge strane pojedini pripadnici ovog roda (*P. rubens*, *P. frequentans*, *P. oxalicum*, *P. janczewskii*) se koriste ili imaju potencijal da budu biokontrolni agensi protiv gljiva, bakterija, insekata i nematoda. Neki od patogenih organizama na koje antagonistički deluju izolati *Penicillium* spp. ili njihovi metaboliti su: *Podosphaera aphanis*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, vrste roda *Monilinia*, *Staphylococcus aureus*, *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas syringa*, *Culex quinquefasciatus*, *Globodera pallida*, *G. rostochiensis* (Cal, M.-Sagasta, i Melgarejo 1990; Sabuquillo, Cal, i Melgarejo 2006; De Cal i dr. 2008; Martinez-Beringola i dr. 2013; Guijarro i dr. 2017; Toghueo i Boyom 2020).

Prema istraživanju Houbakena i dr. (2020), rod *Talaromyces* obuhvatao je 171 vrstu, međutim, za samo godinu dana opisano je 14 novih taksona, te on sada broji 185 vrsta (Crous i dr. 2020; Sun i dr. 2020; Wei, Xu, i Wang 2021; Zhang Z-K. i dr. 2021). Konidiofori u vidu metlice su prisutni i kod vrsta roda *Talaromyces* (Yilmaz i dr. 2014). Gljive iz ovog roda imaju široko rasprostranjenje, naseljavaju različite klimatske zone i sreću se na različitim supstratima – voda, vazduh, žive ili trule biljke, unutrašnjost prostorija, a najveći broj vrsta se nalazi u zemljištu (Zhang Z-K. i dr. 2021). S obzirom da naseljavaju slična staništa i imaju sličnu biologiju kao *Penicillium* spp., vrste roda *Talaromyces* imaju sličnu ulogu u ekosistemima – razlaganje organske materije. Shodno svojoj prirodi, *Talaromyces* spp. mogu uzrokovati kvarenje hrane, biti patogeni voća i povrća, a mogu biti prisutni i na žitaricama i orašastim plodovima (Borecka 1977; Viñas i dr. 1993; Mincuzzi i dr. 2017; Mukhtar i dr. 2019; Li i dr. 2019; Stošić i dr. 2020; Sun i dr. 2020; Stošić i dr. 2021). Dodatni problem mogu predstavljati vrste koje imaju askospore otporne na visoku temperaturu, poput *T. bacillisporus*, *T. flavus*, *T. helicus*, *T. macrosporus*, *T. stipitatus*, *T. trachyspermus* i *T. wortmannii* jer su kontaminanti pasterizovanih voćnih sokova i drugih voćnih proizvoda (Pitt i Hocking 2009; Yilmaz i dr. 2014). *T. islandicus* izaziva žutilo uskladištenog pirinča, i to predstavlja jednu od najdestruktivnijih i najštetnijih bolesti ove žitarice (Kushiro 2015). U *Talaromyces* spp. koje su patogeni ljudi i životinja ubrajaju se *T. indigoticus*, *T. helicus*, *T. piceus*, *T. purpurogenus*, *T. radicus*, *T. rugulosus* i *T. verruculosus*. Ove vrste mogu izazvati površinske infekcije kože, a nekada i infekcije koje dovode do letalnog ishoda (Horré i dr. 2001; Santos i dr. 2006; de Vos i dr. 2009; Weisenborn i dr. 2010; Tomlinson i dr. 2011; Whipple i dr. 2019). Pored pomenutih pripadnika ovog roda, *T. marneffei* je jedina dimorfna *Talaromyces* vrsta koja u zavisnosti od temperature sredine može da raste u filamentoznoj (na 25°C) ili u kvasolikoj formi (37°C) (Andrianopoulos 2002). Osim ove osobine, *T. marneffei* je značajan kao izazivač oportunističke humane mikoze kod pacijenata obolelih od AIDS-a, pogotovo u istočnoazijskim zemljama (Kina, Tajland, Tajvan i Vijetnam) (Deng i dr. 1988; Supparatpinyo i dr. 1994; Hien i dr. 2001). Kasnije su zabeleženi slučajevi ove bolesti i kod HIV negativnih osoba (Kwan i dr. 1997; Chan i dr. 2016).

Pozitivan značaj *Talaromyces* spp. ogleda se u tome da su producenti biološki aktivnih metabolita koji imaju antikancerogeno, antibakterijsko i antifungalno dejstvo, te se u brojnim istraživanjima ispituje mogućnost primene tih supstanci (Bladt i dr. 2013; Zhai i dr. 2016; Nicoletti, Salvatore, i Andolfi 2018). Slično kao i sa *Penicillium* spp., istražuje se sposobnost vrsta roda *Talaromyces* u sintetisanju različitih enzima kako bi se našli novi, jeftiniji načini proizvodnje ovih jedinjenja (Tuohy, Laffey, i Coughlan 1994; Fan i Matthey 1999; Waters i dr. 2010; Fujii i dr. 2014; Xian i dr. 2015; Fujii i dr. 2018; Manglekar i Geng 2020; Méndez-Líter i dr. 2021). Određene vrste mogu da budu biokontrolni agensi – *T. flavus* deluje protiv uvenuća paradajza, plavog patlidžana,

krastavca i krompira koje izazivaju vrste roda *Verticillium* (Dutta 1981; Marois, Fravel, i Papavizas 1984; Fahima i Henis 1995; Naraghi i dr. 2010). *T. flavus* je ispoljio antagonističku aktivnost prema *Cylindrocarpon destructans*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia nivalis*, *Botrytis cinerea*, i *Phytophthora capsici* (Kim i dr. 2017), zatim sposobnost da razlaže ćelijski zid *Pythium ultimum* i *Fusarium equisetii* (Inglis i Kawchuk 2002), a potvrđen je i kao hiperparazit *Sclerotinia sclerotiorum* (McLaren, Huang, i Rimmer 1986). Takođe, otkriveno je da *T. flavus* može da podstiče rast biljaka pamuka i krompira (Naraghi i dr. 2012). Druga vrsta, *T. pinophilus*, je sprečavala poleganja klijanaca pamuka (Alagesaboopathi 1994) i krastavca (Kazerooni, Rethinasamy, i Al-Sadi 2019) koje prouzrokuje *R. solani*, a ispoljila je i mikoparazitsko dejstvo prema *B. cinerea* (Abdel-Rahim i Abo-Elyousr 2018). S obzirom da su vrste roda *Talaromyces* i producenti pigmenata (kao i gljive roda *Penicillium*), u biotehnološkim istraživanjima se traga za postupcima ka efikasnijoj i netoksičnoj proizvodnji i primeni boja u različitim industrijama (tekstilnoj, kožnoj itd.) (Frisvad i dr. 2013; Sudha, Gupta, i Aggarwal 2016; 2017; Torres i dr. 2016; Zaccarim i dr. 2019; Morales-Oyervides i dr. 2020).

1.3. *Penicillium* i *Talaromyces* spp. kao biljni patogeni, njihov ekonomski značaj i patogeneza na plodovima voća i povrća

Vrste rodova *Penicillium* i *Talaromyces* su česti prouzrokovajući skladišnih bolesti voća i povrća poznatih pod nazivom plave i zelene plesni/truleži (*eng. blue and green molds/rots*). Smatraju se najčešćim i najdestruktivnijim gljivičnim skladišnim patogenima. Procenjuje se da do 90% svih truleži i propadanja uskladištenih plodova voća i povrća uzrokuju gljive ova dva roda (Agrios 2005). *Penicillium* spp. i *Talaromyces* spp. produkuju veliki broj spora za kratko vreme, koje su veoma vijabilne i mogu da klijaju i formiraju miceliju na različitim supstratima (de Reuck, Zeeman, i Korsten 2008). Takođe, konidije ovih vrsta mogu opstati na supstratima sa smanjenom količinom aktivne vode u supstratu (a_w) ili u sredinama sa ekstremnim temperaturama (Visagie i dr. 2014b). Mogu se izdvojiti tri glavne faze u aseksualnom životnom ciklusu vrsta ovih rodova: klijanje konidija, rast micelije i formiranje novih konidija (konidiogeneza) (Errampalli 2014).

Odavno je poznato da su gljive ovih rodova tzv. “patogeni rana” (Marygreen 1932). Spore *Penicillium* i *Talaromyces* spp. ulaze u biljne organe kroz oštećenja koja mogu biti posledica uboda insekta, mraza, neopreznog rukovanja u toku berbe, manipulacije u skladištu itd. (Barkai-Golan 2001). Takođe, infekcija se može ostvariti i preko prirodnih otvora na biljkama (stome, hidatode i lenticle) (Kidd i Beaumont 1925; Baker i Heald 1932; Amiri i Bompeix 2005; Rosenberger i dr. 2006). Unutar rane/prirodnog otvora, spore *Penicillium/Talaromyces* spp. klijaju, obrazujući klijajuće cevčice, kolonizujući prvo spoljašnji deo ploda (perikarp), da bi se potom proširile na mezokarp i endokarp (Cheng i dr. 2020; Xu i dr. 2020; Wang i dr. 2021). Da bi spora klijala, potrebno je prisustvo kiseonika, organskih materija (poreklom iz tkiva domaćina) i vlage iz vazduha ili povređenog tkiva ploda (Errampalli 2014). Na klijanje konidija često mogu da utiču pojedina jedinjenja ili metaboliti koji se nalaze u tkivu domaćina, a koji se oslobađaju prilikom povređivanja egzokarpa ploda. Ovo je posebno izraženo kod citrusnog voća i *Penicillium* vrsta koje ih parazitiraju. Isparljive supstance poput acetaldehida, etanola, limonena, mircena, α -pinena, β -pinena i CO_2 koje nastaju pri ozleđivanju egzokarpa plodova citrusa ili se nalaze u njenom sastavu podstiču klijanje konidija *P. digitatum* i *P. italicum* (Eckert i Ratnayake 1994; Droby i dr. 2008). Infekcija se može brzo proširiti i na susedne, zdrave plodove. Ovakav tip infekcije putem kontakta je čest kod plave i zelene truleži citrusnog voća (Marygreen 1932; Barkai-Golan 2001). Kako se na ovaj način stvaraju “gnezda truleži”, ovaj fenomen u literaturi opisan je pod imenom “gnežđenje” (*eng. nesting*, Barmore i Brown 1982; Snowdon 1990).

Nakon klijanja konidija, sledi faza rasta micelije. Ova etapa podrazumeva formiranje hifa iz iskljalih konidija, njihovo povezivanje odnosno obrazovanje micelije i širenje gljive unutar ploda.

Na kraju ciklusa, ovi patogeni formiraju konidiogeni aparat u vidu metlica na kojima će se obrazovati nove spore, sa ciljem njihovog daljeg širenja, na druge plodove i/ili okolne supstrate u skladištima (Xu i dr. 2020).

Početni simptomi bolesti koje navedeni patogeni izazivaju su mekane, vodenaste, obezbojene pege koje mogu biti različitih veličina i mogu se javiti bilo gde na površini ploda. Na sobnoj temperaturi (18-21°C), infekcija napreduje brzo i na mestu nekadašnje pege pojavljuje se najčešće bela micelija (Smith i dr. 1988). Nakon nekoliko dana, počinje produkcija spora koje su najčešće plave, zelene ili plavo-zelene boje. Na kraju patogeneze, na plodu se mogu uočiti tri zone: centar koji je prekriven brojnim sporama, uzak pojas bele micelije na spoljnoj strani nekroze i pojas vodenastog tkiva ploda. Neadekvatni uslovi skladištenja voća i povrća (visoka vlažnost vazduha, neregulisana temperatura prostorije) posebno pogoduju brzom razvoju infekcije. U uslovima suvog vazduha, površinski simptomi ne moraju biti uočljivi, plodovi mogu postati mumificirani i potpuno truli iznutra, sa karakterističnim mirisom buđi (Agrios 2005). Nekada je na plodu vidljiva mešovita infekcija, kada je u isto vreme prisutno više različitih vrsta gljiva (ovih ali i drugih rodova gljiva), i ovo je zapravo češći slučaj u prirodnim staništima nego situacija “jedan patogen-jedan domaćin” (Yurgel i dr. 2018). Na osnovu ispoljenih simptoma na biljci-domaćinu identifikacija prouzrokovala do nivoa vrste je malo verovatna, stoga je potrebna izolacija na selektivne mikološke podloge, analiza morfoloških i fizioloških karakteristika izolata, a često i primena molekularnih metoda. Neke od najznačajnijih patogenih vrsta rodova *Penicillium* i *Talaromyces* na uskladištenim plodovima su: *P. expansum*, *P. crustosum*, *P. solitum*, na jabučastom voću; *P. italicum*, *P. digitatum*, *P. ulaiense*, na citrusima; *P. allii*, *P. albocoremium*, *P. radicola*, na lukovima; *T. funiculosus* na breskvama, *T. islandici*, patogen na uskladištenom pirinču; *T. rugulosus* na jabukama, kruškama grožđu, paradajzu (Barkai-Golan 1974; Frisvad i Samson 2004; Yilmaz i dr. 2014; Li i dr. 2019; Mukhtar i dr. 2019).

Poslednjih decenija intenzivirana su istraživanja procesa infekcije vrsta roda *Penicillium* na histološkom, molekularnom i biohemijskom nivou. Uglavnom su kao modeli istraživanja birane vrste koje su najčešći i najznačajniji patogeni jabučastog i citrusnog voća – *P. expansum*, *P. italicum* i *P. digitatum*. Proces infekcije *P. expansum* na plodovima jabuke teče tako da spore postaju aktivirane već sat vremena od ulaska u tkivo biljke-domaćina. Prva 3 sata bubre i potom kreće formiranje klijajuće cevčice, koja nakon 6 sati od inokulacije penetrira u tkiva ploda gde se dalje odvija proliferacija patogena. Nakon dvanaest sati moguće je uočiti primarnu miceliju (Wang i dr. 2019). Spore prvo opstaju u međucelijskom prostoru spoljnih tkiva plodova, da bi potom osvojile srednju lamelu ćelijskog zida (Liu 2016 *loc. cit.* Wang i dr. 2021). Slično se dešava i sa *P. expansum* na plodu kruške – 9 sati od početka infekcije se dešava klijanje konidija, a nakon 24 sata su formirane hife. Trideset šest sati od početka zaraze već su formirani novi konidiofori sa kojih se konidije odvajaju par sati kasnije (44 sati od infekcije) (Xu i dr. 2020). Proces infekcije je sličan i kod *P. digitatum* na plodovima citrusnog voća (Cheng i dr. 2020).

Ćelijski zid biljke domaćina predstavlja jednu od prvih fizičkih prepreka svim patogenim gljivama, te je jedna od početnih aktivnosti patogena njegovo razlaganje. Tokom inficiranja patogen sintetisuje i luči veliki broj hemijskih supstanci čije su uloge raznovrsne – prodor u ćeliju biljnog domaćina (kolonizacija) i njegovo dalje širenje u tkivo, sprečavanje ili neutralizacija imunskog odgovora domaćina, oštećenje ćelijskih struktura domaćina radi oslobađanja nutrijenata (van der Does i Rep 2017). Ove supstance se mogu podeliti na faktore virulencije i regulatorne faktore. Faktore virulencije čine enzimi koji razlažu ćelijski zid, proteaze i organske kiseline, dok regulatorni faktori obuhvataju reaktivne forme kiseonika (*eng. Reactive oxygen species*, ROS) i brojne gene, transkripcione faktore i njihove produkte čiji je cilj pokretanje raznih procesa u okviru infekcije ili neutralizacije imunskog odgovora biljke-domaćina (Li i dr. 2020).

Enzimi koji razlažu ćelijski zid. Kao što je već istaknuto, spore *Penicillium* spp. se pozicioniraju između srednje lamele ćelijskog zida i tu proizvode enzime poligalakturonaze (PG-

aze), pektin metilesteraze, pektat liaze, koji ga razlažu (Ikotun 1984; Yao, Conway, i Sams 1996; Miedes i Lorences 2006; Li i dr. 2019). Od svih navedenih enzima, najistraženija je PG-aza koja razlaže pektin, jednu od gradivnih komponenti ćelijskog zida (Yao, Conway, i Sams 1996; Prusky i dr. 2004). Pektin obezbeđuje čvrstinu ćelijskom zidu biljke i daje teksturu plodovima voća i povrća, i više je zastupljen u plodovima nego u drugim biljnim organima (Jurick i dr. 2009; Li i dr. 2020). Ovaj molekul je polimer D-galakturonske kiseline, čije su gradivne jedinice međusobno povezane β -1,4-glikozidnim vezama. Uloga PG-aze je raskidanje β -1,4-glikozidne veze između susednih molekula D-galakturonske kiseline (hidroliza pektina), čime se ostvaruje gubljenje čvrstine ćelijskog zida domaćina i hemijska maceracija tkiva. Zato je ova grupa enzima najčešće povezana sa biljnim bolestima poznatim kao meke truleži (*eng. soft rots*) (Jurick i dr. 2009). U toku infekcije plodova pomorandže sa *P. digitatum* dolazi do nagomilavanja galakturonske kiseline koja nastaje kao rezultat razgradnje pektina u ćelijskom zidu ćelija domaćina upravo pod dejstvom PG-aza (Barmore i Brown 1979). PG-aze imaju značaj u kolonizaciji tkiva domaćina i ostvarivanju virulencije te se ovi enzimi najviše proizvode u tim početnim fazama infekcije. Osim bakterija i gljiva, ovu grupu enzima mogu da sintetišu i same biljke, a tada imaju ulogu u omekšavanju sopstvenih tkiva koje vodi sazrevanju plodova (Jurick i dr. 2010). U više različitih studija utvrđeno je da vrste *P. expansum*, *P. italicum*, *P. digitatum*, *P. solitum* proizvode PG-aze u procesu infekcije plodova jabuke, kruške i citrusnog voća (Barmore i Brown 1979, 1982; Yao i dr. 1996; Jurick i dr. 2009, 2010). Kod *P. digitatum* identifikovana su dva gena, *pg1* i *pg2* koji kodiraju PG-azu 1 i PG-azu 2. Mutanti kojima je nedostajao jedan od ova dva gena su bili virulentni u testovima patogenosti na plodovima pomorandže, ali sa smanjenom agresivnošću, pogotovo kod mutanta kome je nedostajao *pg2* gen (Vilanova i dr. 2018).

Proteaze. Proteaze pomažu patogenim gljivama da koriste dostupne proteinske nutrijente domaćina prilikom infekcije i da reaguju na imunski odgovor biljke koji je zasnovan na proteinima (Li i dr. 2015; 2020). Analize sekretoma *P. expansum* pokazale su da ovaj patogen luči više od 80 proteaza, od kojih polovina pripada superfamiliji serinskih proteaza (Li et al. 2015). Slično je i kod *P. italicum* gde značajan procenat sekretoma ove gljive čine proteazni enzimi (Kanashiro i dr. 2020). Uklanjanje jednog gena koji kodira protein iz S8 familije serinskih proteaza (*Peprt*) doveo je do smanjene virulencije *P. expansum* prilikom infekcije ploda jabuke i remetio pravilno formiranje konidija (Li i dr. 2015; Levin i dr. 2019a).

Organske kiseline, amonijumovi joni i promena pH. Pre nekoliko decenija je otkrivena veza između patogenosti gljiva i promene pH tkiva biljke domaćina (Bateman i Beer 1965). Promena pH u inficiranom tkivu dovodi do ekspresije određenih gena koji učestvuju u procesu infekcije i do aktivacije određenih enzima patogena (Alkan, Espeso, i Prusky 2013). Oštećivanjem tkiva domaćina oslobađa se i sadržaj iz ćelija tih tkiva, pri čemu neke od oslobođenih supstanci predstavljaju hranljive materije za samu gljivu (Zhang Z-Q. i dr. 2021). Promena pH tkiva se može ostvariti na više načina, npr. sintezom i lučenjem organskih kiselina male molekulske mase, produkcijom amonijumovih jona ili njihovom neutralizacijom (Alkan, Espeso, i Prusky 2013). Uobičajeni opseg pH vrednosti u plodovima je 4-6, ali patogeni mogu da je smanje na 3,2 ili povećaju do 8. Stoga je promena pH koje patogeni ostvaruju u tkivima domaćina vrlo važna za njihovu uspešnu kolonizaciju (Bi i dr. 2016). Kada su u pitanju organske kiseline male molekulske mase, *P. expansum*, *P. digitatum* i *P. italicum* sintetišu glukonsku, limunsku i fumarnu kiselinu (Jiao i dr. 2022). Najviše literaturnih podataka trenutno ima o nastanku glukonske kiseline. Akumulacija ove kiseline u ćelijama *P. expansum* u toku infekcije je posledica delovanja glukozne oksidaze (Prusky i dr. 2004). Ovaj enzim vrši oksidaciju β -D-glukonske kiseline i kao produkti ove reakcije nastaju H_2O_2 i D-glukono-1,5-lakton, pri čemu potonji molekul spontano hidrolizuje u glukonsku kiselinu (Anastasiadis, Aivasidis, i Wandrey 2003). U studiji Hadas i dr. (2007) identifikovana su dva gena (*gox1* i *gox2*) koji se ekspimiraju kod *P. expansum* tokom infekcije plodova jabuke, pri čemu je ekspresija *gox2* gena mnogo veća u odnosu na *gox1*. Ovi geni kodiraju glukoznu oksidazu, enzim koji je odgovoran za nastanak glukonske kiseline tokom infekcije što

dovodi do snižavanja pH tkiva domaćina. Nekoliko godina kasnije utvrđena je snažna korelacija između stepena razvoja bolesti koju izaziva *P. expansum* na plodovima jabuke i kruške, i nivoa ekspresije *gox2* gena (Barad i dr. 2012). Definitivna potvrda da bez *gox2* nema virulencije *P. expansum* pružili su Chen i dr. (2018) - naime, namerna delecija ovog gena (u ovoj studiji označenog kao *PeGod*) kod izolata *P. expansum* dovela je do drastičnog pada virulencije ove fitopatogene gljive na plodovima jabuke.

Paralelno sa produkcijom organskih kiselina, patogeni ovog roda vrše i potrošnju prisutnih NH_4^+ jona, što takođe snižava pH sredine (Prusky i dr. 2004). Amonijumovi joni nastaju van ćelija ili unutar njih, kao proizvod razgradnje proteina i aminokiselina, pod dejstvom pomenutih proteaza (Vylkova 2017). Nekada sami patogeni aktivno sintetišu amonijumove jone, sa ciljem promene trenutne pH sredine, čime se aktiviraju geni onih enzima koji učestvuju u procesu infekcije i kolonizacije (Barad i dr. 2016). Ranija podela gljiva bila je na one koje zakišeljavaju tkivo domaćina (poput *P. expansum*, *P. digitatum*, *P. italicum*, *Botrytis cinerea*, *Geotrichum candidum*) i one koje vrše alkalizaciju (*Coletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. coccodes*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*), aktivno menjajući pH te sredine (Prusky i Yakoby 2003; Alkan, Espeso, i Prusky 2013). Naime, zakišeljavanje tkiva domaćina se vrši produkcijom organskih kiselina ili ekskrecijom H^+ jona, dok se alkalizacija ostvaruje aktivnom sekrecijom amonijaka (Alkan, Espeso, i Prusky 2013). Novi podaci ukazuju na promenu paradigme – naime, podela na gljive koje zakišeljavaju ili alkalizuju tkivo domaćina nije najadekvatnija. Promena pH koju će patogeni inicirati zavisi od količine dostupnih prostih ugljenih hidrata u tkivima inficiranih domaćina. Skladišni patogeni (uključujući i *P. expansum*) će sniziti pH ka kiselijoj sredini kada šećera u plodovima ima u višku, a pokrenuti alkalizaciju kada postoji deficit šećera (npr. saharoze) (Bi i dr. 2016; Ziv i dr. 2020).

Detekcija pH vrednosti sredine i njena promena se kod gljiva vrši preko Pal/Rim-pH metaboličkog procesa, u kome učestvuju proteini označeni kao PacC, PalA, PalB, PalC, PalF, PalH i PalI. PacC je dominantni transkripcioni faktor i identifikovan je kod raznih grupa gljiva, kao što su biljni i humani patogeni, i druge ekonomski značajne grupe gljiva. Ima ključnu ulogu u regulisanju različitih bioloških procesa, od razvića, preko reprodukcije do patogeneze (Li, Chen, i Tian 2022). Uklanjanje odgovarajućeg gena kod *P. digitatum* (*PdPacC*) dovodi do smanjene ekspresije gena za PG-azu i pektin liazu, dok eliminacija ovog gena kod *P. expansum* (*PePacC*) za posledicu ima smanjenu virulenciju izolata ove vrste na plodovima jabuke i kruške, kao i sposobnost produkcije patulina pri pH većoj od 6 (Zhang i dr. 2013; Chen i dr. 2018). Ranije je navedeno da vrste roda *Penicillium* aktivno sintetišu amonijak sa ciljem modulacije pH sredine u kojoj se odvija infekcija, a skorašnje istraživanje Barad i dr. (2016) pokazuje da amonijak istovremeno može i da reguliše ekspresiju *PacC* transkripta pri kiselim pH vrednostima, što za posledicu ima i akumulaciju patulina u tkivu domaćina.

Drugi važni proteini, transkripcioni faktori i efektorski molekuli. Pored PacC, postoji još regulatornih faktora patogeneze vrsta roda *Penicillium* – reaktivne forme kiseonika, CreA, LaeA, proteini Ste12, VeA, Blistering1, LysM i NLP proteini, lektin/glukanaza slična konkavalinu A (eng. *a concanavalin A-like lectin/glucanase*) i odgovarajući *Peclg* gen. Ukratko, ovi geni i proteini regulišu različite aspekte patogenosti vrsta roda *Penicillium*, uključujući invaziju tkiva domaćina, sintezu enzima i toksina, interakciju s imunskim odgovorom domaćina i pojavu simptoma bolesti (Li i dr. 2020; Luciano-Rosario, Keller, i Jurick 2020; Zhou i dr. 2023). U brojnim studijama koje su se bavile ovim regulatornim faktorima uklanjanje navedenih transkripcionih faktora i gena koji kodiraju ciljane proteine za posledicu je imalo smanjenu virulentnost ili njeno potpuno gubljenje kod vrsta ovog roda (Qin i dr. 2011; Tian, Qin, i Li 2013; Vilanova i dr. 2016; Kumar i dr. 2017; Sánchez-Torres i dr. 2018; El Hajj Assaf i dr. 2018; Levin i dr. 2019b; Tannous i dr. 2018; Bartholomew i dr. 2022; Zhou i dr. 2023). Nedavna istraživanja ukazuju da u patogenezi *Penicillium* spp. na biljnim domaćinama važnu ulogu igraju i epigenetički faktori (poput SntB), kao

i RNK interferencija kroz aktivnosti malih, nekodirajućih RNK (Tannous i dr. 2020; Yin i dr. 2020).

1.4. *Penicillium* i *Talaromyces* – mikotoksini i drugi negativni uticaji na zdravlje ljudi i životinja

Vrste ova dva roda su producenti mikotoksina, supstanci male molekulske mase koji su produkti sekundarnog metabolizma, a koji izazivaju toksične efekte kod ljudi i životinja. Neretko su toksični i za biljke, beskičmenjake i mikroorganizme (Bennett i Klich 2003; Visagie i dr. 2014b; Yilmaz i dr. 2014). Uloga mikotoksina u životnom ciklusu gljiva može biti raznolika: učestvovanje u razvoju infekcije, detoksikacija ćelija od štetnih metaboličkih nusprodukata, ili uloga u kompeticiji sa gljivama koje zauzimaju istu trofičku ekološku nišu (Reverberi i dr. 2010). Konzumiranje plodova kontaminiranih mikotoksinima ili njihovo korišćenje u daljoj industrijskoj preradi za dobijanje sokova, džemova, kašica za bebe itd. predstavlja ozbiljnu pretnju po ljudsko zdravlje. Mikotoksini ovih vrsta gljiva mogu imati mutageno, neurotoksično, citotoksično, kancerogeno, imunosupresivno ili imunotoksično dejstvo, a ono se može ispoljiti u akutnom ili hroničnom obliku (Otero i dr. 2020). Prema poslednjim literaturnim podacima, vrste roda *Penicillium* mogu da produkuju sledeće mikotoksine: asteltoksin, botriodiplodin, ciklopiazonsku kiselinu, citreomicetin, citreoviridin, citrinin, hetoglobozine, izofumigoklavin, komunezine, ksantomegnin, mikofenolnu kiselinu, ohratoksin A, patulin, penicilinsku kiselinu, penitrem A, PR toksin, rokfortin C, rugulosin, rugulovasin, teritrem, sekalonske kiseline D i F, verukulogen, verukosidin, vioksantin, viomelein, viridikatums toksin, viridnu kiselinu (Frisvad i dr. 2006a; Otero i dr. 2020). Od ranije navedenih, najčešćih vrsta na uskladištenim plodovima, *P. expansum* i *P. radicola* mogu da produkuju nefrotoksin citrinin; *P. radicola* može da proizvede penicilinsku kiselinu koja ima hepatotoksično, nefrotoksično i kancerogeno dejstvo; *P. crustosum* sintetiše penitrem A, visokotoksični tremorgen i indol-terpen; *P. expansum* produkuje patulin, mikotoksin koji ima imunotoksično, kardiotoksično, teratogeno dejstvo, a uzrokuje i akutne smetnje u radu gastrointestinalnog sistema (Barkai-Golan 2008; Frisvad 2018; Saleh i Goktepe 2019). Prema SZO, patulin je i potencijalni genotoksin (WHO, 2005). Pored *P. expansum*, još 166 vrsta, varijeteta i hemotipova gljiva (ne samo iz roda *Penicillium*) može da sintetiše patulin, ali deo tih podataka treba uzeti sa rezervom (Frisvad 2018). Ovaj mikotoksin je najčešće detektovan u plodovima jabuka i proizvodima od njih, međutim, u literaturi se navode i plodovi drugog voća, poput krušaka, kajsija, breskvi, grožđa, različitih vrsta bobičastog voća i suvih smokvi (Drusch i Ragab 2003; Karaca i Nas 2006). Zbog dokazanog štetnog dejstva, za patulin i ohratoksin A su pravnim propisima određene maksimalno dozvoljene koncentracije u voću i proizvodima od voća (pre svega jabuka) u dosta zemalja, uključujući i EU (Fernández-Cruz, Mansilla, i Tadeo 2010). Međutim, problem povišenih nivoa ovih mikotoksina se može javiti i kod plodova drugog voća, na šta je ukazalo istraživanje Sanzani i dr. (2013). Izmerena količina patulina (u µg/g sveže mase) često je bila veća u plodovima trešanja ili stonog grožđa nego u jabukama (Sanzani i dr. 2013). Prevencija, odnosno sprečavanje infekcije fitopatogenim *Penicillium* spp. je ključ u rešavanju ovog problema. Mere koje je neophodno sprovesti su: održavanje optimalnih uslova u skladištima (temperatura, vlažnost vazduha itd.), redovne sanitarne mere koje uključuju dezinfekciju prostorija i opreme, i eliminisanje plodova sa simptomima truleži iz magacina i sa proizvodnih traka (Fernández-Cruz, Mansilla, i Tadeo 2010).

U poređenju sa nekadašnjim sestrinskim rodом *Penicillium*, broj mikotoksina koji sintetiše vrste roda *Talaromyces* je manji i to su sledeći metaboliti: rugulozin, skirin, botriodiplodin, ciklohlortin, islandotoksin, luteoskirin, rubratoksin, rugulovasin, sekalonske kiseline D i F (Yilmaz i dr. 2014). Ranije je pomenuto da su *T. minioluteus* i *T. rugulosus* do sada potvrđene kao fitopatogene gljive na uskladištenom voću i povrću. *T. minioluteus* proizvodi sekalonsku kiselinu D

i F, koja ispoljava teratogeno dejstvo, dok *T. rugulosus* sintetizira rugulozin čije je hepatokancerogeno dejstvo potvrđeno u ogledima na miševima i pacovima (Otero i dr. 2020).

Osim produkcije mikotoksina, vrste rodova *Penicillium* i *Talaromyces* mogu imati negativni uticaj na zdravlje ljudi i životinja kroz izazivanje brojnih patoloških stanja. Kao vrste uobičajeno prisutne u vazduhu u vidu bioaerosola, često su izolovane u jedinicama intenzivne nege i iz uzoraka kliničkog porekla, univerzitetskim bibliotekama i stambenim jedinicama (Visagie i dr. 2014a; Guevara-Suarez i dr. 2016; 2017; Guo i dr. 2021; Kumar i dr. 2021; Khalaf i dr. 2022). Jedinice za ventilaciju i klima uređaji su takođe jedno od staništa na kojima se sreću vrste ovih rodova (Bernstein i dr. 1983; Takuma i dr. 2011). Jedan od uslova sredine koji treba da bude ispunjen da bi *Penicillium/Talaromyces* spp. uspešno uspostavile infekciju kod humanih/animalnih domaćina je temperatura od 37°C (što je prosečna temperatura tela brojnih sisara), odnosno nešto viša temperatura ako su pitanju ptice (Pitt 1994). Gljive ovih rodova mogu izazvati i neke površinske dermatomikoze (Lopez-Martinez, Neumann, i Gonzalez-Mendoza 1999; Weisenborn i dr. 2010; Khodadadi i dr. 2021). Takođe, hipersenzitivni pneumonitis je jedna od čestih bolesti koje izazivaju *Penicillium* spp. (Solley i Hyatt 1980; Bernstein i dr. 1983; Park i dr. 1994). Pored toga, vrste ova dva roda su potencijalni izazivači i drugih alergijskih reakcija i stanja kod ljudi poput astme, rinitisa, spoljašnjeg alergijskog alveolitisa (Icenhour i Levetin 1997; Reboux i dr. 2019). *Penicillium* spp. su često oportunistički patogeni, i u literaturi postoje nalazi o tome da izazivaju pneumoniju (D'Antonio i dr. 1997; Mok i dr. 1997; Oshikata i dr. 2013), infekciju centralnog nervnog sistema (Kantarcioglu i dr. 2004), endoftalamitis (Gharamah i dr. 2012) i diseminovanu peniciliozu (Avilés-Robles i dr. 2016). Verovatno najviše proučavan oportunistički patogen iz navedenih rodova je *T. marneffei* (nekada *P. marneffei*), izazivač talaromikoze kod imunokompromitovanih pacijenata. Prvi slučaj infekcije ovim patogenom je zabeležen pre pola veka, a sama vrsta opisana desetak godina ranije (Segretain 1959; Cao, Xi, i Chaturvedi 2019). Ova gljiva izaziva ozbiljnu infekciju kod ljudi ali je njeno rasprostranjenje endemičnog karaktera, vezano za Južnu i Jugoistočnu Aziju (Cao, Xi, i Chaturvedi 2019). Treba pomenuti da pripadnici ovih rodova izazivaju mikoze i kod životinja, najčešće kod pasa kod kojih su utvrđeni slučajevi diseminovane infekcije (de Vos i dr. 2009), granulomatoznog limfadenitisa (Tomlinson i dr. 2011), osteomijelitisa (Langlois i dr. 2014) i gljivičnog artritisa (Whipple i dr. 2019).

1.5. Taksonomija i sistematika roda *Penicillium*

Prema aktuelnoj klasifikaciji, rod *Penicillium* (Link) pripada carstvu gljiva (*Fungi*), razdelu *Ascomycota*, klasi *Eurotiomycetes*, redu *Eurotiales*, porodici *Aspergillaceae* (Houbraken i Samson 2011). Rod je prvi opisao Johan Hajnrih Fridrih Link pre više od 200 godina u svom delu "Opservacije o prirodnom poretku kod biljaka" (*lat. Observationes in ordinibus plantarum naturales*) (Link 1809). U ovom delu Link je naveo 3 vrste, *P. expansum*, *P. candidum* i *P. glaucum*, čije su zajedničke odlike da se "talus sastoji od septiranih travnatih čuperaka, sa jednostavnim i uspravnim sporonosnim granama čiji vrh podseća na četkicu (*lat. penicillus* – četkica/metlica). Izolat *P. expansum* Link je uzorkovao sa ploda trule jabuke, pa se prema današnjim merilima može smatrati da je navedena vrsta tipska za ovaj rod. Međutim, Link kasnije (1824.) prestaje da koristi naziv *P. expansum* i grupiše sve zelene *Penicillium* vrste pod imenom *P. glaucum*. Narednih decenija, mnoge današnje vrste ovog roda se pogrešno označavaju tim imenom. Mikolozi koji su se u periodu 1830-1900. bavili rodom *Penicillium* i opisali dosta vrsta su Corda, Fresenius, Bonorden, Preuss, Rivolta i Spegazzini, međutim većinu tih novoopisanih vrsta u kasnijim godinama nije bilo moguće prepoznati, čak i u slučajevima kada je postojao herbarijumski materijal (Pitt 1979). Sledeći značajni istraživači koji su doprineli kreiranju nove taksonomije roda bili su Brefeld i van Tieghem. Brefeld je isticao korišćenje standardizovanih tehnika kultivacije gljiva, i detaljno opisao anamorfni i teleomorfni stadijum *P. expansum*. Van Tieghem je dao opise savršenog i nesavršenog stadijuma za vrstu koja je tada bila poznata pod imenom *Penicillium aureum*. Među naučnicima koji su

proučavali rod *Penicillium* treba pomenuti i Delakroa (*fr. Delacroix*) i Vemera (*nem. Wehmer*). Značaj Delakroa se ogleda u prvom opisu vrste *P. duclauxii* u čistoj kulturi, čuvanju izolata u vidu živih kultura i njihovog distribuiranja kao tipskog materijala u taksonomske svrhe. Vemer je prvi počeo proučavanje biohemijskih osobina vrsta ovog roda (Pitt 1979). Takođe, Dirks (*hol. Dierckx*) i Biurž (*fr. Biourge*) su dali veoma veliki doprinos izgradnji stabilnije taksonomije roda *Penicillium*. Prva sistematična istraživanja započeo je Biurž, proučavanjem bakterijske “bolesti” piva. Sa različitih supstrata: klijanaca ječma, vode, infuzija slada, sireva, voća i drugih svežih proizvoda, Biurž je dobio veliki broj izolata gljiva. Jedno od njegovih glavnih otkrića je da naziv *P. glaucum* (Link) nije odgovarajući za sve izolate sa kolonijama zelene boje (Hennebert 1986). Stoga je Biurž počeo sa radom na monografiji vrsta roda *Penicillium*, u koji se kasnije uključio i Dirks koji je 1900. godine na ovoj temi odbranio doktorsku disertaciju. Teza je sadržala opise i ilustracije 25 vrsta roda *Penicillium*, od kojih su 23 u tom trenutku bile nove za nauku. Sažetak teze, pod nazivom “Esej o reviziji roda *Penicillium*”, predstavljen je na sastanku Društva naučnika Brisela 1900. godine. Rad istog naslova objavljen je godinu dana kasnije (Dierckx 1901; Hennebert 1986). To je i jedini rad koji je Dirks je objavio na tu temu. Pored opisa novih vrsta, doprinos Dirksa u taksonomiji roda je u tome i što je prvi predložio podelu na tri podroda, *Aspergilloides*, *Biverticillium* i *Eupenicillium*, koja se zasnivala na načinima grananja konidiofora što je bio osnov klasifikacije u nekim kasnijim revizijama roda (Houbraken i Samson 2011; Visagie 2012). Iako voljan da nastavi rad na ovoj tematici, Dirks ne uspeva i zbog studijskih putovanja po svetu gubi dosta izolata, i od 1904. Biurž preuzima zadatak ponovne izolacije vrsta, razvoja i reorganizacije kolekcije (Hennebert 1986). U jeku Prvog svetskog rata (1916.), Biurž predstavlja osnovne crte svoje buduće monografije (“Buđi iz grupe *Penicillium*: monografska studija”). Nekoliko godina kasnije (1920.), Biurž publikuje rad sa tim naslovom, a 1923. objavljuje i monografiju koja obuhvata opise 133 vrste, uključujući i one koje je Dirks ranije prvi put opisao. Kasnije je uspostavio saradnju sa Čarlsom Tomom (*eng. Charles Thom*), sledećim značajnim istraživačem ovog roda (Pitt 1979; Hennebert 1986).

Doprinos Toma je u praktičnom pristupu identifikaciji gljiva ovog roda, kroz korišćenje morfologije kolonija u taksonomske svrhe, gajenje izolata na više različitih podloga tačno definisanog sastava, i praćenje razvoja kultura na određenim temperaturama inkubacije. Tom je zaslužan za sređivanje “haosa” koji je do tada vladao u taksonomiji ovog roda, kroz više svojih publikacija – od prve, izdate 1906. (“Gljive odgovorne za zrenje sireva”), pa do jedne od najvažnijih monografija koje se bave ovim rodovima (“The Penicillia”, 1930). U navedenoj monografiji on je pružio opise 300 vrsta, i dao podelu roda na 4 divizije (*Monoverticillata*, *Asymmetrica*, *Biverticillata-symmetrica* i *Polyverticillata-symmetrica*, kategorije analogne današnjim podrodovima), 12 sekcija i 18 podsekcija. Kriterijum za podelu na divizije bio je tip grananja metlice (Thom 1930; Visagie 2012). Zajedno sa Kenetom B. Rejperom (*eng. Kenneth B. Raper*), Tom će kasnije objaviti kapitalno delo “Manual of the Penicillia” (Raper i Thom 1949), koje će služiti kao osnovna literatura pri identifikaciji vrsta roda *Penicillium* narednih 30 godina. U ovoj knjizi opisano je 137 vrsta, raspoređenih u 4 sekcije i 41 seriji. Dodatni akcenat u priručniku stavljen je na standardizaciji čvrstih podloga i nekoliko kardinalnih temperatura inkubacije. Razvoju taksonomije ovog roda Rejper je doprineo kroz sistematično, pažljivo i pravilno čuvanje izolata. Usput je bio pionir i u liofilizaciji, tada novoj tehnici dugotrajnog čuvanja kultura (Pitt i Samson 1990; Visagie 2012).

Dalji doprinos u izgradnji koherentne sistematike roda pružio je Džon Pit (*eng. John Pitt*), svojim delom “Rod *Penicillium* i njegovi teleomorfni stadijumi *Eupenicillium* i *Talaromyces*”, objavljenim 1979., tačno 30 godina nakon prethodne značajne monografije. S obzirom na to da je došao iz polja industrijske mikologije, Pitu je bilo posebno važno da metode identifikacije vrsta pomenutog roda budu brze (Visagie 2008). Zbog toga je početna inkubacija izolata izvođena u trajanju od 7 dana, na 25°C. Akcenat je bio na daljoj standardizaciji metoda rada, ali i opisa vrsta. Standardizacija metoda obuhvatala je precizno definisanje načina inokulacije i veličine inokuluma,

kao i merenje prečnika kolonija nastalih prilikom gajenja na više temperatura i nekoliko čvrstih podloga standardnog sastava (CYA, MEA, pre svega). Pit je detaljno razmatrao koncept vrsta, i veze između teleomorfa i anamorfa, u skladu sa tada aktuelnim Kodeksom botaničke nomenklature. Ovo su monografije pod rukovodstvom Toma izostavljale (Visagie 2012). Pored navedenog, Pit je prvi proučavao razvoj gljiva roda *Penicillium* (i srodnih rodova) na podlozi sa smanjenom količinom dostupne vode (Nitratni agar sa 25% glicerola, G25N). Na ovaj način je efektivno omogućio gajenje kserofilnih vrsta ovog roda u laboratorijskim uslovima. U njegovoj monografiji su predstavljeni opisi 97 vrsta, razvrstanih u 4 podroda, 10 sekcija i 21 seriji. Podela na podrodove (*Aspergilloides*, *Penicillium*, *Furcatum* i *Biverticillium*) je bila zasnovana na tipu grananja metlica. Osim roda *Penicillium*, Pit je posebna poglavlja posvetio i teleomorfnim stadijumima *Eupenicillium* i *Talaromyces*, gde je opisao 37, odnosno 16 vrsta. *Eupenicillium* je obuhvatao predstavnike sa čvrstim askokarpima tipa kleistotecije, dok su u rodu *Talaromyces* bile grupisane vrste sa askokarpom u vidu mekane gimnotecije (Pitt 1979). U periodu između dve pomenute monografije, Rejperove i Tomove (1949), i Pitove (1979), više drugih istraživača je objavilo radove koji za temu imaju rod *Penicillium* (Abe 1956; Smith 1963; Pidoplichko 1972; Fassatiova 1977). Nakon ovih publikacija, objavljena je monografija "Priručnik i atlas *Penicillia*" (Ramirez i Martinez 1982). U njoj je primenjena taksonomska šema koju su postavili Rejper i Tom (1949), a odlike kolonija su istaknute kao neki od najvažnijih karakteristika u identifikaciji postojećih i opisivanju novih vrsta. Nedostaci ovog dela su što je opis nekih vrsta baziran na samo jednom izolatu, a predloženi period inkubacije u trajanju od 14 dana je bio nepraktičan sa aspekta primenjene mikologije (Visagie 2012).

Morfološki pristup u identifikaciji *Penicillium* spp. bio je dominantan do 70-ih XX veka, i istraživačima je bio od velike koristi u tom periodu. Međutim, identifikacija gljiva ovog roda često je predstavljala problem čak i za iskusne mikologe, upravo zbog čestih revizija rodova, velikog broja vrsta, vrlo finih razlika na mikromorfološkom nivou kao kriterijuma za razlikovanje taksona, urođene varijabilnosti vrsta, promenljivosti u fenotipu koja nastaje kao posledica promena uslova gajenja i brojnih drugih razloga (Pitt 1986; Visagie i dr. 2014b). Uvođenje fizioloških metoda je bio sledeći korak u razvoju taksonomije ovih rodova, i prve rezultate na tom polju je dobio upravo Pit (1973, 1979). Novopredložene informativne odlike u taksonomiji *Penicillium* vrsta bile su gajenje kultura na različitim temperaturama i na mikrobiološkim podlogama precizno definisanog sastava, zatim gajenje na podlogama sa niskom/visokom količinom dostupne vode (a_w), i određivanje produkcije enzima. Otkriće antibiotika penicilina od strane Fleminga otvorilo je novo polje istraživanja i korišćenja gljiva ovog roda na polju farmacije. U potonjim decenijama došlo se do saznanja da su *Penicillium* spp. producenti čitavog niza sekundarnih metabolita (ekstrolita, egzometabolita), od kojih su mikotoksini možda i najznačajniji. Pioniri u analizi profila produkcije sekundarnih metabolita i njihove upotrebe u taksonomske svrhe u okviru roda *Penicillium* bili su Ciegler i Pitt (1970). U isto vreme, Scott i dr. (1970) koriste tehniku tankoslojne hromatografije (eng. *Thin-layer chromatography*, TLC) kako bi ispitali produkciju 18 mikotoksina kod vrsta iz rodova *Aspegillus*, *Fusarium* i *Penicillium*. Kasnije se podaci dobijeni fiziološkim ispitivanjima kombinuju sa podacima o morfologiji i koriste u opisima novih vrsta ili reklasifikaciji već postojećih (Frisvad 1981; Filtenborg i dr. 1983; Frisvad 1986a, 1986b; Frisvad i Filtenborg 1989; Boysen i dr. 1996; Frisvad i dr. 1997; Christensen i dr. 1999; Frisvad i dr. 2006; Houbraken, Frisvad, i Samson 2011a). U detekciji mikotoksina i korišćenju dobijenih profila sekundarnih metabolita u taksonomske svrhe počinju da se koriste nove, bolje i preciznije metode, poput tačne hromatografije visokih performansi (eng. *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC), gasne hromatografije (eng. *Gas Chromatography* GC) ili elektrosprej masene spektrometrije (Frisvad i Thrane 1987; Frisvad i dr. 2004; Smedsgaard, Hansen, i Frisvad 2004; Krska i dr. 2008). Nedostaci hemotaksonomskih metoda su slučajevi kada postoji izostanak produkcije određenog sekundarnog metabolita (kao posledica dugogodišnjeg čuvanja u kolekciji izolata), ili to da određena vrsta nije stalni producent svih ranije detektovanih ekstrolita (Houbraken 2013). Stoga se

može desiti da izolati iste vrste nemaju iste profile u analizi metabolita, te se javlja sumnja da li su u pitanju pripadnici iste vrste.

Ono što je izazvalo revoluciju u razlikovanju vrsta unutar rodova *Penicillium* i *Talaromyces* je bilo korišćenje DNK sekvenciranja, započeto tokom 90-tih godina 20. veka. Primena molekularnih metoda je omogućila taksonomima koji se bave ovim rodovima da pretpostave i istraže moguće filogenetske odnose vrsta, ali i da kreiraju nove taksonomske šeme. Molekularne metode su bile od posebne koristi kod vrsta koje su fenotipski vrlo slične, a zapravo predstavljaju odvojene taksonove, kao i kod onih izolata koji ispoljavaju veliku fenotipsku varijabilnost, a u stvari su pripadnici jedne vrste. Prednost molekularnih metoda u mikologiji je što je (uz određene predušlove) moguće identifikovati organizam na osnovu različitog izvornog materijala – to može biti nekoliko ćelija, jedna spora, suvi herbarijumski materijal ili fosilni ostaci (Guarro, Gené, i Stchigel 1999). Ove metode odlikuje brzina i visoka specifičnost – pomoću njih moguće je utvrditi razlike između vrsta, ali i između različitih jedinki jedne vrste, što je posebno važno u detekciji fitopatogenih gljiva. Takođe, molekularne tehnike omogućavaju da se utvrde određene genetičke osobine gljive, npr. senzitivnost ili rezistentnost na određeni fungicid ili razlike u virulentnosti između jedinki/populacija (McCartney i dr. 2003). Na kraju, sekvenciranjem kompleksnih uzoraka (=metabarkodiranje) kao što je npr. zemljište, moguće je detektovati i one organizme koji su obligatni paraziti/patogeni, ali i druge vrste koje nije moguće gajiti na mikrobiološkim podlogama u laboratorijskim uslovima, čime se dobija uvid u skriveni diverzitet gljiva (Xu 2016). Od uvođenja molekularnih metoda, testirano je više genskih regiona sa ciljem da posluže kao molekularni markeri u identifikaciji, klasifikaciji i utvrđivanju filogenetskih odnosa vrsta roda *Penicillium*: interni transkribovani region jedarne ribozomalne RNK (eng. *Internal transcribed spacer*, ITS), geni za kalmodulin, beta tubulin, podjedinicu 1 citohrom-C oksidaze (*COI*), i svaki od njih je imao određene prednosti i neke slabosti u efikasnom razlikovanju taksona (Berbee i dr. 1995; Skouboe i dr. 1996; Skouboe i dr. 1999; Seifert i dr. 2007; Wang i Zhuang 2007). ITS je pre desetak godina određen i za zvaničan barkod molekularni marker za identifikaciju gljiva. Ovaj region je izabran jer ima najvišu verovatnoću uspešne identifikacije za najveći broj gljiva koje pripadaju različitim taksonskim grupama i zato što ima najjasnije definisan tzv. “jaz barkodiranja” (eng. *barcode gap*) (Schoch i dr. 2012). Jedna od velikih prednosti korišćenja ITS-a kao barkoda je i to što svaki haploidni genom obično sadrži više tandemski ponovljenih kopija ribozomalnog rRNK klastera gena (koji obuhvata i ITS), čime je moguće umnožiti ovaj gen iz malih količina biološkog materijala (Xu 2016). U pitanju je jedan od regiona koji je među prvima korišćen u molekularnoj taksonomiji gljiva (White i dr. 1990). Stoga je često u prošlosti bio, a i sada jeste prvi izbor brojnih mikologa u molekularnoj identifikaciji gljiva, te je i broj deponovanih sekvenci prilično veliki (Begerow i dr. 2010). Međutim, u slučaju roda *Penicillium*, ITS nema visoku diskriminativnu moć u razlikovanju vrsta, stoga je poželjno, preporučeno, a često i neophodno da se koriste sekundarni markeri kako bi se utvrdio identitet izolata korišćenjem molekularnih tehnika, ne samo za ovaj rod, već i za druge grupe gljiva (Visagie i dr. 2014b; Lücking i dr. 2020). Pored ITS-a, najčešći genski markeri koji su u upotrebi u molekularnoj identifikaciji vrsta rodova *Penicillium* su gen za beta tubulin (*BenA*), gen za kalmodulin (*CaM*), gen za drugu najveću subjedinicu DNK-zavisne RNK polimeraze II (*RPB2*), i preporuka je da se koristi više lokusa kako bi se vrste korektno identifikovale (Visagie i dr. 2014b).

Aktuelni, savremeni pristup u identifikaciji ovih vrsta je poznat i pod imenom „polifazni” (višefazni, integrativni), i podrazumeva kombinovanje podataka o morfologiji, fiziologiji i molekularnim sekvencama i filogenetskim odnosima taksona. Polifazni pristup je u poslednjih desetak godina za rezultat imao izgradnju stabilne taksonomije ovih rodova i postao neka vrsta standarda kada je u pitanju identifikacija, ali i opisivanje novih vrsta gljiva iz rodova *Penicillium* (i *Talaromyces*). Do 2011. godine, rod *Penicillium* je pripadao porodici *Trichocomaceae*, koja je obuhvatala i *Aspergillus*, *Talaromyces* i još 26 drugih rodova (Visagie 2012). Houbraken i Samson (2011) su izvršili velike promene u taksonomiji roda *Penicillium* i porodice kojoj je pripadao.

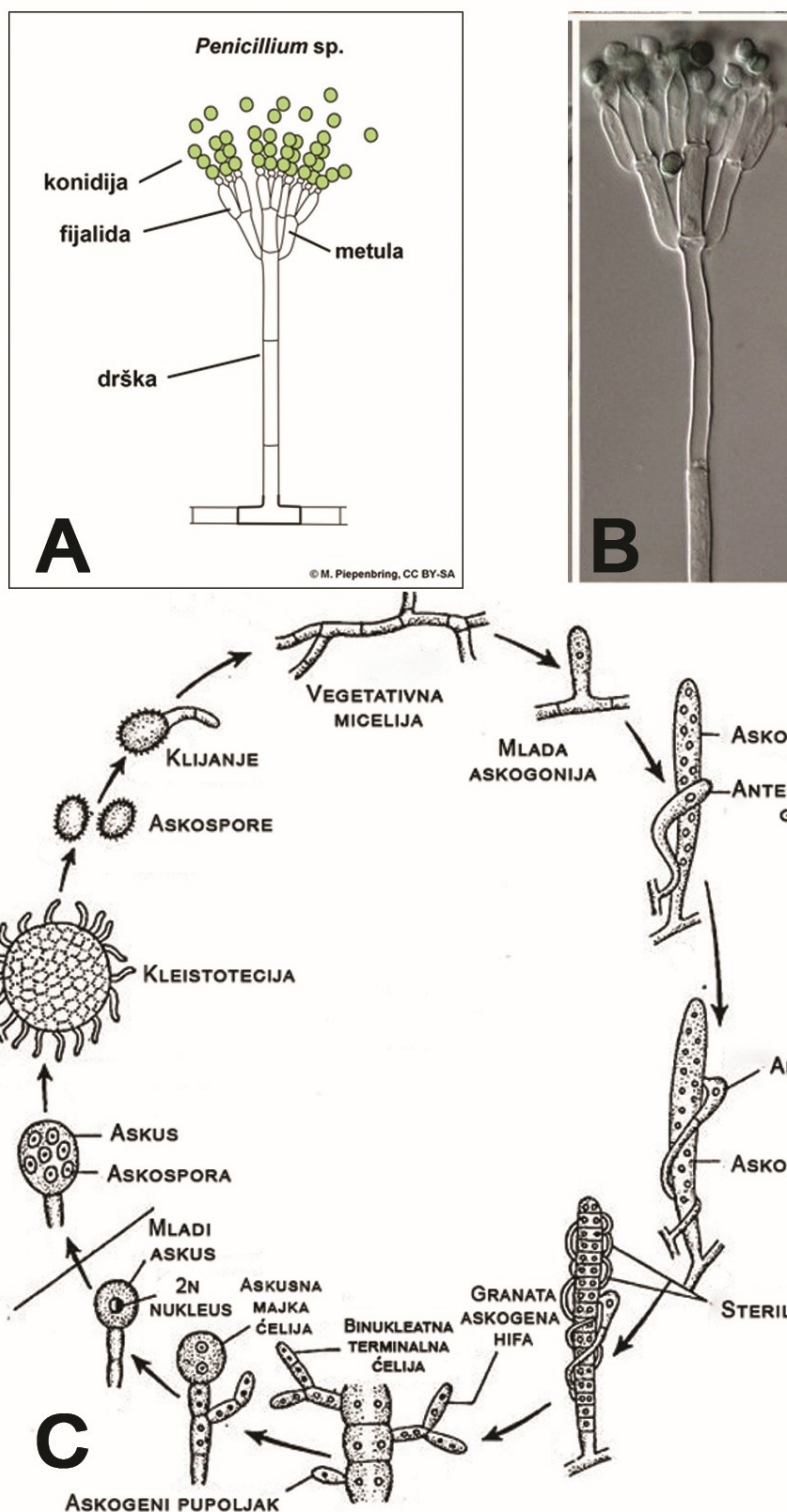
Kreirane su 3 nove familije: *Aspergillaceae*, *Thermoascaceae* i *Trichocomaceae*, u okviru kojih su raspoređene sve vrste nekadašnje porodice. Redefinisanje rodova i porodica je bilo rezultat opsežnih filogenetskih analiza 4 lokusa vrsta iz nekadašnje porodice *Trichocomaceae*, i bilo je usklađeno sa tada novousvojenim konceptom “jedna gljiva=jedno ime”, usvojenim na 18. Međunarodnom botaničkom kongresu u Melburnu (Houbraken i Samson 2011). Ovim konceptom, član 59. Botaničkog kodeksa nomenklature koji je predviđao različita latinska imena za anamorfnu i teleomorfnu stadijum gljiva, revidiran je, a taksonomija gljiva zakoračila u novo doba zasnovano na polifaznom pristupu, molekularnim podacima i filogenetskim odnosima vrsta (Hawksworth 2011; Norvell 2011; McNeill i dr. 2012). Taksonomske promene uključivale su prebacivanje roda *Penicillium* u drugu porodicu (*Aspergillaceae*), kao i izmene na subgeneričkom nivou. Nekadašnja Pitova podela na 4 podroda (*Aspergilloides*, *Penicillium*, *Furcatum* i *Biverticillium*) i 10 sekcija je zamenjena podelom na podrodove *Aspegilloides* i *Penicillium*, u okviru kojih su vrste raspoređene u 25 sekcija (Houbraken i Samson 2011). Uz to, autori su jedan broj imena proglasili za sinonime (*Chromocleista*, *Carpenteles*, *Citromyces*, *Eladia*, *Eupenicillium*, *Hemicarpenteles*, *Thysanophora* i *Torulomyces*), a deo vrsta je prebačen u druge rodove (pre svega vrste podroda *Biverticillium* u rod *Talaromyces*) čime su postavljeni temelji savremene, koherentne i stabilne taksonomije oba roda.

Prema poslednjim istraživanjima (Houbraken i Samson 2011), rod *Penicillium* obuhvata vrste čija je micelija gusta, kompletno submerzna, sa nepravilnim grananjem. Hife su providne ili svetle boje i poseduju septe, formiraju koloniju koja je kompaktna i sa izraženim, lako uočljivim marginama. Konidiofori niču iz nediferenciranih potpovršinskih, površinskih ili vazdušnih hifa. Konidiogeni aparat čini dobro definisana struktura, u vidu metlice ili četkice (Slika 1A), koje polaze od drški (*eng. stipes*). Same drške su uglavnom uske i tankog zida, 2-5 μm širine, kod nekih vrsta se blago šire na vrhu i najčešće su providne ili braon boje (kod određenih vrsta). Metlicu čine fjalide (konidiogene ćelije), koje mogu da se razvijaju direktno na drškama ili na granama (metule). Same fjalide dostižu dužinu do 15 μm i najčešće imaju oblik ampule, a retko kada cilindra. Konidije se formiraju bazipetalno, prečnika 2-5 μm (retko kada preko 6 μm), čini ih jedna ćelija ili su u masi, obojene najčešće u raznim nijansama zelene boje, ređe bele ili braon. Vrste ovog roda ne formiraju hlamidospore, dok se sklerocije formiraju retko, i tada su građene od čvrstih ćelija debelih i tvrdih zidova. Plodonosno telo je kleistotecija i kada je formirana onda je tvrda, (sub)loptastog oblika, pseudoparenhimatična ili sklereična (Slika 1C). Sazreva od centra ka spolja, a može biti bele, žute, narandžaste ili braon boje, retko kada crna ili crvena. Askusi su elipsastog oblika ili okruglasti, 5-15 μm i nose 8 spora. Askospore su lentikularnog (sočivastog) oblika, u prečniku 2-5 μm i duž sredine imaju izražene grebene (Houbraken i Samson 2011).

1.6. Taksonomija i sistematika roda *Talaromyces*

Taksonomija roda *Talaromyces* se u prošlosti često preplitala sa taksonomijom roda *Penicillium*. Sa rodom *Talaromyces* su povezivani anamorfnu stadijumi vrsta iz rodova *Penicillium*, *Paecilomyces* i *Geosmithia* (Pitt, Samson, i Frisvad 2000). Van Tieghem je 1877. izolovao vrstu *Penicillium* čiji je polni stadijum imao askokarp bez zida i pamučnu teksturu (Pitt 1979). Skoro vek kasnije, rod *Talaromyces* prvi je uveo Benjamin (1955), kao teleomorfnu stadijum *Penicillium* vrsta koje imaju mekani askokarp tipa gimnotecije i čiji je zid građen od isprepletanih hifa. Askokarpi su obično žute boje, sa ovalnim ili okruglim askusima koji sadrže bodiljkave askospore. Za tipsku vrstu odredio je *T. vermiculatus* (Dangeard) C.R. Benjamin. Stolk i Samson (1971) su iz ove grupe izdvojili vrste roda *Talaromyces* koji proizvode pojedinačne askuse, i svrstali ih u rod *Hamigera*. Nakon ove taksonomske intervencije, u rodu *Talaromyces* ostale su one vrste koje proizvode askuse u nizovima (lancima) (Stolk i Samson 1972). U svojoj monografiji koja se bavi anamorfnim stadijumom (*Penicillium*) i teleomorfnim stadijumima (*Eupenicillium* i *Talaromyces*), Pit (1979) je rodove *Talaromyces* i *Hamigera* tretirao kao sinonime. Do 2011. godine, *Talaromyces* kao rod je objedinjavao samo vrste koje imaju polnu reprodukciju. Tada je urađeno redefinisanje ovog roda,

koje je bilo tesno povezano i sa redefinisanjem nekadašnjeg roda *Penicillium* (*Penicillium sensu lato*), i promenama unutar nekadašnje porodice *Trichocomaceae* kojoj su oba roda pripadala (Houbraken i Samson 2011; Samson i dr. 2011). Naime, kombinujući podatke o makro- i mikromorfologiji, profilima ekstrolita, biohemiji, kao i one dobijene u analizama molekularnih filogenija nekoliko gena (ITS, SSU, LSU, *RPB1*, *RPB2*, *Tsr1*, *Cct8*), navedeni autori su vrste podroda *Biverticillium* (iz roda *Penicillium*) prebacili u rod *Talaromyces*. Osim toga, autori su uzeli u obzir i rezultate drugih istraživača koji su ukazivali na to da je *Penicillium* polifiletski. Naime, aseksualne vrste iz podroda *Biverticillium* su u ranijim filogenetskim analizama često bile grupisane u zajedničku kladu sa *Talaromyces* spp., koji je prema tadašnjim shvatanjima obuhvatao taksone samo sa teleomorfnim stadijumom (LoBuglio, Pitt, i Taylor 1993; Berbee i dr. 1995; Ogawa, Yoshimura, i Sugiyama 1997; Ogawa i Sugiyama 2000; Wang i Zhuang 2007). Pored primenjenog polifaznog pristupa, taksonomske promene su izvršene u skladu sa tada predloženim i novousvojenim principom “jedna gljiva-jedno ime”, koji je inkorporiran u okviru novog Međunarodnog kodeksa nomenklature algi, gljiva i biljaka (nekadašnji Kodeks botaničke nomenklature). Na taj način, u okviru roda *Talaromyces* zajedno su se našle vrste čija je polna faza poznata i one koje se reprodukuju bespolnim putem. Stoga, prema aktuelnoj klasifikaciji, rod *Talaromyces* C.R. Benj. pripada carstvu *Fungi*, razdelu *Ascomycota*, klasi *Eurotiomycetes*, redu *Eurotiales*, porodici *Trichocomaceae* (Houbraken i Samson 2011; Samson i dr. 2011). Obuhvata vrste čije kolonije na CYA proizvode žute i crvene pigmente sa naličja, a na Čapekovom autolizatnom agaru sa ekstraktom kvasca i 5% NaCl (CYAS) rastu slabo ili se ne razvijaju uopšte. Konidiofori se ponekada grupišu formirajući determinisane ili nedeterminisane koremijske (eng. *synnemata*). Elementi konidiofora mogu biti nazubljenih ili glatkih zidova, a sama metlica ima najčešće biverticilatan tip grananja (Slika 1B). Prisustvo subterminalnih grana je retko, kao i vrste sa monoverticilatnim ili samostalnim fjalidama. Drške (eng. *stipes*) su obično hijalinske, i na svojim krajevima nose grupu od 3-10 metula. Konidogene ćelije su fjalidnog tipa, slične dužine kao metule, i tipično su acerozne, a retko kada u obliku boce. Same spore su bez septi, u masi imaju zelenu boju i formiraju se u bazipetalnim lancima. Oblik spora je najčešće elipsoidni do fuziformni, retko okruglast. Kada je prisutan polni stadijum, askokarp je u vidu gimnotecije, sa uočljivim mekanim zidom građenim od isprepletanih hifa, najčešće žute boje. Askusi nastaju u lancima, i obično sadrže 8 askospora (retko kada 2). Same askospore se sastoje od jedne ćelije, elipsoidne do okruglaste, sa zidom koji je nazubljen. Tipična vrsta je *T. vermiculatus* (P.A. Dang.) C.R. Benj. (= *Talaromyces flavus* (Klöcker) Stolk & Samson) (Yilmaz i dr. 2014). Markeri koji se koriste u molekularnoj identifikaciji vrsta iz roda *Talaromyces* su isti oni koji se koriste i za sestrinski *Penicillium*, dakle ITS, *BenA*, *CaM* i *RPB2* (Yilmaz i dr. 2014).



Slika 1. A. Crtež metlice (konidiofora) *Penicillium* sp. sa obeleženim strukturama (preuzeto sa <https://shorturl.at/joyIL> i adaptirano, © M. Piepenbring, licenca CC BY-SA). B. Metlica *Talaromyces* sp. (preuzeto sa <https://shorturl.at/DJOX9> i adaptirano, CC0). C. Šema polne faze *Penicillium* sp. (preuzeto sa <https://shorturl.at/fiBEF> i adaptirano).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Sistematska, višegodišnja istraživanja etiologije simptoma plavih i zelenih truleži na uskladištenom voću i povrću u Srbiji do sada nisu bila rađena. Ovo istraživanje je prvo sveobuhvatno proučavanje prouzrokovaca truleži izazvane vrstama *Penicillium* i *Talaromyces* poreklom sa različitih biljaka domaćina primenom savremenog, polifaznog pristupa. Uporedno proučavanje osobina izolata iste vrste poreklom sa različitih biljaka domaćina kao i ispitivanje osobina pripadnika različitih vrsta poreklom sa istog domaćina pružiće nove podatke koji su doprinos fundamentalnim mikološkim istraživanjima dva navedena roda na teritoriji naše zemlje. Ova studija je važna zbog aspekta bezbednosti hrane i mogućih negativnih uticaja na ljudsko zdravlje, pre svega produkcije mikotoksina. Takođe, velike ekonomske štete koju izazivaju ove vrste gljiva na plodovima voća i povrća, zahtevaju brzu i tačnu identifikaciju kako bi se u skladištima implementirale adekvatne mere zaštite i kontrole. Stoga su postavljeni sledeći ciljevi istraživanja:

- ispitivanje etiologije simptoma plavih i zelenih truleži na voću i povrću u Srbiji;
- izolacija prouzrokovaca pomenutih simptoma na uskladištenom voću i povrću i formiranje kolekcije monosporičnih kultura plesni;
- identifikacija i karakterizacija dobijenih izolata rodova *Penicillium* i *Talaromyces* primenom polifaznog pristupa;
- provera patogenosti dobijenih izolata na izvornim biljkama domaćinima i utvrđivanje infektivnog potencijala;
- utvrđivanje specijskog diverziteta gljiva proučavanih rodova.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Sakupljanje uzoraka, izolacija i dobijanje monosporičnih izolata gljiva

U periodu 2015-2020. izvršeno je prikupljanje uzoraka voća i povrća (plodovi, krtole, koren i lukovice) sa simptomima plave i zelene plesni/truleži iz većeg broja marketa, pijaca i skladišta na teritoriji Republike Srbije (Tabela 1). Biljni organi prilikom sakupljanja pakovani su u prethodno obeležene neprovidne papirne kese (svaki uzorak pojedinačno) i transportovani u ručnom frižideru do laboratorije. Po dolasku u laboratoriju uzorci su detaljnije vizuelno pregledani, potom fotografisani i nakon toga je vršena izolacija. Ukoliko izolacija nije rađena u danu sakupljanja, uzorci su u kesama čuvani u frižideru do trenutka izolacije.

Tabela 1. Biljke domaćini sa kojih su izolovane vrste *Penicillium* i *Talaromyces*

Biljke domaćini		Biljni organ
<i>Malus domestica</i> Borkh.	Jabuka	
<i>Pyrus communis</i> L.	Kruška	
<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	Dunja	
<i>Prunus persica</i> var. <i>nucipersica</i> (Suckow) C. K. Schneid	Nektarina	
<i>Actinidia deliciosa</i> (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson	Kivi	Plod
<i>Citrus limon</i> [L.] Osbeck	Limun	
<i>Citrus sinensis</i> [L.] Osbeck	Pomorandža	
<i>Citrus reticulata</i> Bianco	Mandarina	
<i>Citrus</i> × <i>paradisi</i> Macfad.	Grejpfrut	
<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Paradajz	
<i>Solanum tuberosum</i> L.	Krompir	Krtola
<i>Daucus carota</i> subsp. <i>sativus</i> (Hoffm.) Schübl. & G. Martens	Šargarepa	Koren
<i>Allium cepa</i> L.	Crni luk	Lukovica
<i>Allium sativum</i> L.	Beli luk	

Izolacija gljiva iz sakupljenih uzoraka je urađena primenom standardnih fitopatoloških metoda. Naime, sa površine prikupljenih plodova, krtola i lukovica sterilnim skalpelom uzorkovani su sitni delovi sa prelaza bolesnog u zdravo tkivo. Površinska sterilizacija uzorkovanih fragmenata vršena je potapanjem u 1% vodeni rastvor natrijum-hipohlorita (NaOCl), u trajanju od 2 minuta. Nakon toga su fragmenti ispirani 3 puta sterilnom destilovanom vodom, prebačeni na podlogu sa sladnim ekstraktom (*eng. Malt extract agar, MEA*) i inkubirani u mraku na 25°C u trajanju od 3-5 dana. Micelija formirana nakon isteka perioda inkubacije je presejana na novu MEA podlogu radi dobijanja čistih kultura. Monosporični izolati gljiva su dobijeni od čistih kultura metodom serijskih

razređenja (Crous i dr. 2009). Dobijeni izolati gljiva zasejani su u epruvete sa kosom PDA podlogom i inkubirani do 7 dana u termostatu, na 25°C. Nakon formiranja kultura, izolati su uvršteni u Kolekciju gljiva Instituta za zaštitu bilja i životnu sredinu u Beogradu i čuvani u frižideru na 4°C. Svakih 6 meseci vršeno je presejavanje ove kolekcije izolata. Razvijene čiste kulture na MEA razvrstane su u grupe na osnovu svojih makromorfoloških odlika, i iz svake morfogrupe su selektovani reprezentativni izolati sa kojima je dalje rađeno. Sva eksperimentalna ispitivanja su urađena u laboratorijama Odseka za bolesti bilja, Instituta za zaštitu bilja i životnu sredinu u Beogradu. Fotografisanje reproduktivnih struktura odabranih izolata izvedeno je na Katedri za algologiju i mikologiju Instituta za botaniku i Botaničkoj bašti Jeveremovac, Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

3.2. Proučavanje morfoloških karakteristika izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp.

Proučavanje morfoloških odlika izolata gljiva rodova *Penicillium* i *Talaromyces* vršeno je prema Frisvad i Samson (2004), Pitt i Hocking (2009), Samson et al. (2010), Visagie i dr. (2014b) i Yilmaz i dr. (2014). Svaki izolat zasejan je pomoću automatske mikropipete i odgovarajućeg nastavka postavljajući 1-2 µl suspenzije konidija na tri mesta (u trouglastu formaciju) u Petri kutije prečnika 90 mm na 3 čvrste podloge: Čapekova autolizatna podloga sa ekstraktom kvasca (*eng. Czapek Yeast Autolysate agar*, CYA), MEA i podlogu sa kreatinom i saharozom (*eng. Creatine sucrose agar*, CREA). Podloge su pripremljene prema recepturi datoj u tabeli u Prilogu 1, a suspenzija konidija je napravljena u rastvoru polučvrstog agara (*eng. semisolid agar*). Sterilizacija podloga vršena je u autoklavu, pri uslovima od 121°C i pritisku od 1,2 bara, u trajanju od 20 min. Kulture su nakon zasejavanja inkubirane u mraku, u termostatima (WTW, model TS 606/2-i; Pol-eko, model ST2+; i Velp Scientifica, model FTC 90I), u trajanju od 7 dana na temperaturi od 25°C. Po isteku perioda inkubacije, sve Petri kutije su fotografisane fotoaparatom Olympus (FE-220/X-785, Olympus korporacija, Japan) i Nikon (L120, Nikon korporacija, Japan). Merena su dva prečnika svake kolonije na svakom od tri mesta zasejavanja unutar Petri kutije. Za svaku od navedenih kolonija beležene su njihove makromorfološke karakteristike – izgled i boja micelije sa lica i naličja, tekstura kolonija, sporulacija, prisustvo i boja eksudata, kao i eventualna promena boje podloge. Kolonije koje bi se slučajno razvile van mesta inokulacije (tzv. „odlutale“ kolonije, *eng. stray colonies*) su izuzimane iz merenja i opisivanja. Zasejavanja gde nije bilo porasta vidljivog golim okom su, kao u Visagie (2012), pregledana na stereomikroskopu da bi se utvrdilo da li ima razvijenih mikrokolonija ili klijanja konidija. Ako je rezultat tog pregleda bio negativan, beleženo je da im je prečnik 0 mm. Ogled je izveden u tri ponavljanja.

3.3. Proučavanje mikromorfoloških odlika izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp.

Mikromorfološke odlike izolata dva navedena roda proučavane su posmatranjem na fazno-kontrastnom mikroskopu Olympus (model BX51, Olympus korporacija, Japan). Privremeni mikroskopski preparati pripremani su tako što je fragment micelije sa konidioforima i sporama sa MEA podloge prebačen iglom na predmetno staklo koje je sadržalo kap 60%-og vodenog rastvora mlečne kiseline (Visagie i dr. 2014b; Yilmaz i dr. 2014). Beležene su morfološke odlike konidiofora (grananje), fjalida i konidija (oblik, ornamentacija ćelijskog zida). Fotografisanje preparata urađeno je pomoću dva uređaja: 1) Olympus digitalnom kamerom (model E620) povezanom sa mikroskopom i odgovarajućim softverom (Quick Photo Camera, PROMICRA, Češka); 2) Zeiss Axio Imager M.1 mikroskopom opremljenim softverom AxioVision Release 4.6 software (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany). Oba programa korišćena su za merenje dimenzija konidija (100 spora/izolatu). Merena su 2 prečnika spore (dužina i širina), postavljena pod pravim uglom jedan u odnosu na drugi.

3.4. Uticaj temperature na izgled i rast izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp.

Reprezentativni izolati zasejani su na CYA i inkubirani na 3 različite temperature – 5, 25 i 37°C kako bi se ispitaio uticaj različitih temperatura na rast, izgled i sporulaciju kultura. Način zasejavanja, broj ponavljanja i metod ocene ogleđa je bio isti kao i u ispitivanjima morfologije na različitim hranljivim podlogama.

3.5. Metode molekularne identifikacije i karakterizacije

3.5.1. Ekstrakcija DNK izolata gljiva

DNK odabranih izolata je ekstrahovana korišćenjem komercijalnog kompleta DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Nemačka), prema uputstvima proizvođača. Izolati su gajeni u pojedinačnim staklenim bocama sa zatvaračem, zapremine 200 ml, koje su sadržale 100 ml sterilnog krompir-dekstroznog bujona (*eng. Potato dextrose broth, PDB*). Inkubacija kultura je trajala 7 dana, u mraku, na temperaturi od 25°C. Nakon tog perioda, kopljastom iglom je iz svake boce uzorkovan komad razvijene kulture (od 50 do 100 mg) i prebačen u prethodno sterilisane mikrotube zapremine 2 ml. U mikrotube sa micelijom je dodavana mala količina tečnog azota kako bi se izvršilo trenutno smrzavanje uzorka. Uzorci su potom usitnjavani mehaničkim putem korišćenjem višekratnih, prethodno sterilisanih, plastičnih mikrotučkova. U svaku mikrotubu sa homogenizovanim sadržajem dodato je po 400 µl AP1 pufera i 4 µl RNase A osnovnog (štok) rastvora iz komercijalnog kompleta, kako bi se oslobodio ćelijski sadržaj i razgradili eventualno prisutni RNK molekuli. Sadržaj tubica je promešan na automatskoj mešalici-vortexu (ZX³, Velp Scientifica, Italija) i mikrotube su potom stavljene na inkubaciju u vodenom kupatilu, u trajanju od 10 min na 65°C. U toku inkubacije tube su svakih 3 min ručno protresane sa ciljem podsticanja daljeg oslobađanja ćelijskog sadržaja i razlaganja prisutnih RNK molekula. U sledećem koraku, u svaku od mikrotuba je dodato po 130 µl P3 pufera, potom su promešane na mešalici i stavljene na inkubaciju na ledu u trajanju od 5 min. Funkcija P3 pufera je taloženje pristunih ćelijskih komponenti, pre svega proteina i ugljenih hidrata prisutnih u smeši. Sadržaj mikrotuba je, nakon inkubacije na ledu, prebačen u ljubičaste QIAshredder Mini Spin kolone koje su u kolektorskim tubama. Tube su, zajedno sa kolonama, centrifugirane 2 min pri brzini od 14 000 obrtaja/min (*eng. rotations per minute, rpm*). Tečnost koja je prošla kroz kolonu i njene filtere i koja je bila u kolektorskoj tubi (okvirne zapremine 450 µl), je prebačena u novu mikrotubu zapremine 1,5 ml korišćenjem automatske mikropipete, uz oprez da se ne zahvati i ne poremeti talog formiran na dnu kolektorske tubice. U te, nove tube sa filtriranom tečnom fazom dodato je po 675 µl AW1 pufera i smeša u zatvorenoj tubici je promešana snažnim ručnim protresanjem. Sledeća faza obuhvatala je pipetiranje date smeše u dva navrata (prvo 650, a potom 475 µl) u bezbojne DNeasy Mini Spin kolone (koje su u kolektorskim tubicama), i dva centrifugiranja u trajanju od po 1 min na 8000 rpm. Svrha tog postupka je bila vezivanje ukupne DNK za filter kolona, i proceđivanje i odbacivanje nepotrebne tečnosti iz smeše na dnu kolektorskih mikrotuba. Nakon drugog centrifugiranja, filtrirana tečnost i kolektorska tuba su odbacivani, a DNeasy Mini Spin kolona je postavljena u novu kolektorsku tubu gde je dodato po 500 µl AW2 pufera. Ovaj pufer ima ulogu ispiranja i uklanjanja nečistoća koje su prisutne u filteru. Centrifugiranje je vršeno u dva koraka - prvi put 1 min na 8000 rpm, potom je filtrirana tečnost odbačena, zatim je dodato novih 500 µl AW2 pufera nakog čega je sledilo drugo centrifugiranje u trajanju od 2 min na 14 000 rpm. Ukoliko je posle ovog koraka filter DNeasy Mini Spin kolone i dalje bio obojen (što je ukazivalo na još uvek prisutne nečistoće), ispiranje i centrifugiranje je ponovljeno još jednom, ovog puta sa 500 µl 100% etanola. U poslednjoj fazi ekstrakcije, kolektorske tubice i proceđena tečnost su odbacivani, a DNeasy Mini Spin kolone su prebačene u nove tubice zapremine 1,5 ml i svakom uzorku je dodavano po 100 µl AE pufera, direktno na filter kolone. Inkubacija uzoraka je trajala 5 min na sobnoj temperaturi posle čega je sledilo njihovo centrifugiranje 1 min na 8000 rpm. AE pufer je u

tom postupku vršio rastvaranje DNK sa filtera, a centrifugiranje je imalo za cilj taloženje DNK i samog pufera na dno mikrotube. Tako dobijena, rastvorena DNK izolata gljiva je čuvana u zamrzivaču na -20°C do dalje upotrebe.

3.5.2. Lančana reakcija polimeraze

Molekularna identifikacija, a zatim i multigenska karakterizacija izolata, urađeni su primenom lančane reakcije polimeraze (eng. *Polymerase chain reaction*, PCR). Za prvu fazu identifikacije izabrana su dva genska regiona – ITS i *BenA*. ITS je izabran jer predstavlja zvaničnu barkod genetičku sekvencu za identifikaciju pripadnika carstva gljiva (Schoch i dr. 2012), a *BenA* zato što se upotrebom u praksi pokazao kao trenutno najbolji molekularni marker za primarnu identifikaciju vrsta rodova *Penicillium* i *Talaromyces* (Visagie i dr. 2014b; Yilmaz i dr. 2014). Deo izolata je odabran radi umnožavanja genskih regiona za kalmomodulin (*CaM*) i DNK-zavisnu drugu najveću subjedinicu RNK polimeraze II (*RPB2*). Ukupna zapremina PCR smeše za sve analize je bila 40 µl. Prikaz komponenti reakcione smeše je predstavljen u tabeli 2, dok su u tabeli 3 prikazani vremensko-temperaturni uslovi. Uslovi za PCR su preuzeti iz Visagie i dr. (2014b) i Yilmaz i dr. (2014), uz modifikaciju protokola za *RPB2* – u našim ogleđima je korišćen konvencionalan PCR sa temperaturom od 60°C za hibridizaciju prajmera, umesto preporučenog touch-up PCR. Negativnu kontrolu predstavljala je PCR smeša u kojoj je umesto DNK dodata ista količina molekularne vode (Ambion, Thermo Fisher Scientific, SAD). Za umnožavanje ciljanih DNK fragmenata korišćeni su PCR aparati Eppendorf Master cycler Personal, Eppendorf Master cycler Nexus GSX1 (Eppendorf, Nemačka) i Applied Biosystems thermal cycler 2720 (Thermo Fisher Scientific, SAD).

3.5.3. Razdvajanje umnoženih produkata u električnom polju i njihova vizuelizacija

Elektroforetska mobilnost umnoženih PCR produkata testirana je u 1%-om agaroznom gelu koji je pripremljen rastvaranjem 1 g agaroze u 100 ml TBE pufera (Tris-Borat 90 mM, EDTA 1mM) u erlenmajeru. Pufer sa agarozom zagrevan je do temperature ključanja u mikrotalasnoj pećnici u trajanju od 2 min, a potom je sledilo hlađenje do otprilike 50°C kada je dodato 3 µl Midori Green DNK boje (Bullodg Bio, SAD). Dodata boja je ravnomerno promešana unutar rastvora blagim ručnim rotiranjem erlenmajera i onda je gel razliven u kalup za horizontalnu elektroforezu sa unapred postavljenim pregradama i češljevima za formiranje bunarčića. Očvršćavanje gela je trajalo u proseku pola sata nakon čega se pristupalo punjenju bunarčića umnoženim PCR produktima. Kako je za ITS, *BenA* i *CaM* korišćen Master mix koji je već bio fabrički obojen, u njihovom slučaju stavljano je po 5 µl DNK amplikona u bunarčić, dok je u slučaju *RPB2* produkata 5 µl smeše prvo mešano sa po 1,5 µl boje za vizualizaciju (Loading dye, Fermentas) i onda unošeno u bunarčić. Za orijentacionu proveru veličine umnoženih fragmenata u prvi i poslednji bunarčić uneto je po 3,5 µl DNK markera, sa rasponom veličina fragmenata 100-3000 bp (DNA ladder, Solis Biodyne, Estonia). Kretanje DNK fragmenata u elektroforezi trajalo je 45 min, pri konstantnom električnom naponu od 110 V i jačini struje od 40 mA. Vizuelizacija kretanja DNK fragmenata izvedena je postavljanjem i posmatranjem gela na UV transluminatoru (Vilber Lourmat, Nemačka).

Tabela 2. Komponente za PCR reakcionu smešu za 4 genska regiona (količine za 1 PCR reakciju, 40 µl)

<i>ITS, BenA, CaM</i>		<i>RPB2</i>	
Komponenta	Količina (µl)	Komponenta	Količina (µl)
2x PCR Master mix	20	PCR pufer (bez MgCl ₂)	4
Prajmer 1 (forward)	4	Prajmer 1 (forward)	0,8
Prajmer 2 (reverse)	4	Prajmer 2 (reverse)	0,8
Molekularna H ₂ O, bez nukleaza	10,4	Molekularna H ₂ O, bez nukleaza	28,9
Ciljna DNK	1,6	MgCl ₂ , 50 mM	1,6
		Smeša nukleotida (dNTP)	1,6
		Taq polimeraza	0,3
		Ciljna DNK	2

Tabela 3. Molekularni markeri i prajmeri, njihove reference i uslovi PCR reakcije

Lokus	Par prajmera	Smer	Sekvenca prajmera (5'-3')	Referenca prajmera	Uslovi reakcije
<i>ITS</i>	V9G	Forward	TTA CGT CCC TGC CCT TTG TA	de Hoog i van den Ende (1998)	94°C, 5 min,
	LS266	Reverse	GCA TTC CCA AAC AAC TCG ACT C	Masclaux i dr. (1995)	94°C, 45 s, 55°C, 45 s, 72°C, 1 min, (35 ciklusa)
<i>CaM</i>	CMD5	Forward	CCG AGT ACA AGG ARG CCT TC	Hong i dr. (2006)	72°C, 7 min
	CMD6	Reverse	CCG ATR GAG GTC ATR ACG TGG		
<i>BenA</i>	Bt2a	Forward	GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC	Glass i Donaldson (1995)	94°C, 5 min,
	Bt2b	Reverse	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC		94°C, 30 s, 55°C, 45 s, 72°C, 1 min, (35 ciklusa)
<i>BenA</i> (<i>Talaromyces</i> sekcija <i>Islandici</i>)	T10	Forward	ACG ATA GGT TCA CCT CCA GAC	Glass i Donaldson (1995) i Yilmaz i dr. (2014)	72°C, 7 min 94°C, 5 min,
	Bt2b	Reverse	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC		94°C, 30 s, 52°C, 45 s, 72°C, 1 min, (35 ciklusa)
<i>RPB2</i>	5F	Forward	GAY GAY MGW GAT CAY TTY GG	Liu i dr. (1999) i naša studija	72°C, 7 min 94°C, 5 min,
	7Cr	Reverse	CCC ATR GCT TGY TTR CCC AT		94°C, 45 s, 60°C, 45 s, 72°C, 1 min, (35 ciklusa)
					72°C, 7 min

3.5.4. Sekvenciranje, analiza i deponovanje sekvenci

Prečišćavanje i sekvenciranje umnoženih genskih regiona urađeno je u evropskom uslužnom servisu kompanije Macrogen (Amsterdam, Holandija). Genski regioni su sekvencirani u oba smera na automatskom sekvenatoru ABI 3730XL, korišćenjem istih parova prajmera upotrebljenih za amplifikaciju. Po prijemu hromatograma iz Macrogena, kvalitet dobijenih sekvenci je ispitan korišćenjem programa FinchTV (verzija 1.4.0, Geospiza, Inc.), dok su konsenzus sekvence formirane upotrebom ClustalW algoritma (Thompson, Higgins, i Gibson 1994) integrisanom u programu MEGA7 (Kumar, Stecher, i Tamura 2016). Finalne, konsenzus sekvence su upoređene sa sekvencama u GenBank bazi američkog Nacionalnog centra za biotehnoške informacije (*eng. National Center for Biotechnology Information*, NCBI) koristeći BLASTn algoritam pretrage. Radi dodatne provere i potvrde rezultata BLAST pretrage, sekvence iz ove studije poređene su sa ranije deponovanim sekvencama referentnih izolata onih vrsta koje su bile u vrhu rezultata pretrage. Za poravnanje i poređenje sekvenci je ponovo upotrebljen ClustalW algoritam (Thompson, Higgins, i Gibson 1994) programa MEGA7 (Kumar, Stecher, i Tamura 2016). Nakon toga, finalne sekvence su deponovane u GenBank bazu gde im je dodeljen jedinstveni pristupni broj (*eng. accession number*).

3.5.5. Konstrukcija filogenetskih stabala

U cilju provere filogenetskih odnosa izolata *Penicillium* i *Talaromyces*, konstruisana su filogenetska stabla. Za kreiranje stabala iskorišćene su sekvence generisane u prethodnoj fazi istraživanja, ali i referentne sekvence drugih izolata istih i srodnih vrsta iz rodova *Penicillium* i *Talaromyces* (Tabela 4). Ovo je urađeno sa svrhom ispitivanja taksonomske pozicije i međusobnih odnosa odabranih izolata iz Srbije i onih poreklom iz drugih delova sveta. Konstruisano je 8 filogenetskih stabala - pojedinačna stabla za ITS i *BenA* sa svim našim sekvencama oba roda (4 stabla), multilokusna stabla sa svim sekvencama oba roda (ITS+*BenA*, 2 stabla), kao i 2 multilokusna stabla sa 4 gena (ITS+*BenA*+*CaM*+*RPB2*), jedno sa sekvencama *T. minioluteus*, i drugo za izolate ciljnih rodova poreklom sa ploda kruške. Sve filogenetske analize urađene su korišćenjem metode maksimalne verovatnoće (*eng. Maximum Likelihood*, ML) u MEGA7 programu. Odabir najboljeg modela nukleotidne supstitucije je urađen u istom programu, primenjujući Akaike kriterijum (*eng. Akaike information criterion*). Pouzdanost konstruisanih stabala testirana je u 1000 bootstrap ponavljanja, i na finalnim stablima su prikazane bootstrap vrednosti >50%. Sekvence *Aspergillus niger* (izolat NRRL 326), *Neocosmospora phaseoli* (izolat CBS 102429) i *Talaromyces pinophilus* (CBS 631.66) su korišćene kao spoljne grupe (*eng. outgroup*) za "ukorenjavanje" (*eng. root*) stabala u odgovarajućim filogenetskim analizama. Vizuelna priprema i finalno uređivanje filogenetskih stabala urađeno je u programu Adobe Illustrator CS6 (Adobe, SAD).

Tabela 4. Izolati *Penicillium* i *Talaromyces* spp. korišćeni u molekularnim i filogenetskim analizama (izolati predstavljeni podebljanim fontom su iz ovog istraživanja)

	Vrsta	Izolat	Supstrat i poreklo	GenBank pristupni brojevi			
				ITS	<i>BenA</i>	<i>CaM</i>	<i>RPB2</i>
1.	<i>Aspergillus niger</i>	NRRL 326 = CBS 554.65	Fermentacija tanin-galne kiseline, Konektikat, SAD	EF661186	EF661089	/	/
2.	<i>Neocosmospora phaseoli</i> (= <i>Fusarium solani</i>)	CBS 102429	Kora drveta, Australia	KM231808	KM232069	KM231381	KM232376

3.		CLP/2	Crni luk, lukovice, Srbija	/	/	/	/
4.		SZ-21/1	Crni luk, lukovice, Srbija	OR633242	OR644433	OR664150	OR664136
5.		SZ-21/2	Crni luk, lukovice, Srbija	OR633243	OR644434	OR664151	OR664137
6.	<i>P. allii</i>	IBT 3056=CBS 188.88	Prehrambeni artikal, UK	AJ005484	AY674333	/	/
7.		NRRL 35475	Beli luk, Ajdaho SAD	/	HQ695997	/	/
8.		CBS 109581 = IBT 4112 = IMI 297905	<i>Oryza sativa</i> , Češka Republika	/	AY674332	/	/
9.		KrP/2	Kruška, plod, Srbija	MT872085	MW162400	/	/
10.		KrP/5	Kruška, plod, Srbija	MT872086	MW162401	/	/
11.		KrP/6	Kruška, plod, Srbija	MT872087	MW162402	MW115930	MW145142
12.		FRR 1669 = CBS 115503 = IMI 091917	Plod limuna, Aberdin, Škotska, UK	AY373907	AY674353	DQ911132	/
13.		SFC20140101- M781 = 5501	Nepoznato	KJ527442	KJ527407	/	KJ527372
14.	<i>P. crustosum</i>	CV1267 = DTO182I3	<i>Protea repens</i> zbirni plod, Riverlends (Malmbsuri), Južna Afrika	JX091401	JX091537	JX141578	MK461536
15.		CV1529 = DTO183C4	<i>Protea repens</i> zbirni plod, Riverlends (Malmbsuri), Južna Afrika	JX091402	JX091538	JX141579	MK461542
16.		CV0241 = DTO181D2	<i>Protea repens</i> zbirni plod, Stelenboš, Južna Afrika	JX091403	JX091536	JX141576	MK461524
17.		CV0251 = DTO181D6	Grinja sa <i>Protea</i> <i>repens</i> zbirnog ploda, Stelenboš, Južna Afrika	JX091404	JX091530	JX141577	MK461525
18.		CNU 6043	Plod jabuke, Jesan, Južna Koreja	HQ225711	HQ225724	/	/
19.		21-7	Limun, plod, Srbija	/	ON988101	/	/
20.	<i>P. digitatum</i>	CBS 112082	Limun, Italija	KJ834506	KJ834447	KU896833	JN121426
21.		CBS 101026 = IBT 21520 = IBT 15179	Čili-mešavina, Indonezija	/	AY674403	/	/
22.		DnjP/1	Dunja, plod, Srbija	/	/	/	/
23.		DnjP/3	Dunja, plod, Srbija	/	/	/	/
24.	<i>P. expansum</i>	GPP/1	Grejpfrut, plod, Srbija	/	/	/	/
25.		GPP/2	Grejpfrut, plod, Srbija	/	/	/	/
26.		JP/1	Jabuka, plod, Srbija	/	/	/	/

27.		JP/4	Jabuka, plod, Srbija	/	/	/	/
28.		KiP/1	Kivi, plod, Srbija	/	/	/	/
29.		KiP/2	Kivi, plod, Srbija	/	/	/	/
30.		LiP/2	Limun, plod, Srbija		ON988099	/	/
31.		MP/4	Mandarina, plod, Srbija	MT556009	MT563326	/	/
32.		MP/5	Mandarina, plod, Srbija	MT556010	MT563327	/	/
33.		NeP/1	Nektarina, plod, Srbija	/	/	/	/
34.		NeP/2	Nektarina, plod, Srbija	/	/	/	/
35.		NeP/3	Nektarina, plod, Srbija	/	/	/	/
36.		NeP/4	Nektarina, plod, Srbija	/	/	/	/
37.		ParP/1	Paradajz, plod, Srbija	/	ON186699	/	/
38.		PP/12	Plod pomorandže, Srbija	/	/	/	/
39.		ŠaP/1	Krtola šargarepe, Srbija	/	/	/	/
40.		19-10	Kruška, plod, Srbija	MT872088	MW162403	/	/
41.		19-11	Kruška, plod, Srbija	MT872089	MW162404	/	/
42.		19-12	Kruška, plod, Srbija	MT872090	MW162405	MW115931	MW145143
43.		19-13	Kruška, plod, Srbija	MT872091	MW162406	/	/
44.		19-14	Kruška, plod, Srbija	MT872092	MW162407	/	/
45.	<i>P. expansum</i>	CBS 325.48 = ATCC 7861	Plod jabuke, SAD	AY373912	AY674400	DQ911134	JF417427
46.		SFC20140101-M737 = 5537	Nepoznato	KJ527444	KJ527409	/	KJ527374
47.		F758	Koren šećerne repe, Ajdaho, SAD	MG714838	MG714864	MG714821	MG714845
48.		CV2860 = DTO180F6 = CV 407	Zemljište, Južna Afrika	FJ230989	JX091539	JX141580	MK450839
49.		CV2861 = DTO180F7 = CV 432	Zemljište, Južna Afrika	FJ230990	JX091540	JX141581	MK450840
50.		CNU 7003	Plod jabuke, Daejoen, Južna Koreja	HQ225715	HQ225727	/	/
51.	<i>P. italicum</i>	SZ-16-2	Lukovica belog luka, Srbija	OR633248	OR644439	OR664156	OR664142

52.		KrP/3	Kruška, plod, Srbija	MT872093	MW162408	/	/
53.		KrP/4	Kruška, plod, Srbija	MT872094	MW162409	/	/
54.		KrP/9	Kruška, plod, Srbija	MT872095	MW162410	MW115932	MW145144
55.		CBS 339.48	Plod citrusnog voća, Riversajd (Kalifornija), SAD	KJ834509	AY674398	DQ911135	JN121496
56.		SFC20140101-M724 = 5340	Nepoznato	KJ527447	KJ527412	/	KJ527377
57.		ATCC 48114	<i>Citrus aurantium</i> , UK	AY373920	/	/	/
58.		CNU 6089	Plod jabuke, Jesan, Južna Koreja	HQ225716	HQ225728	/	/
59.		SZ-20-6	Paradajz, plod, Srbija	MW130235	MW145147		
60.		CBS 232.60 = NRRL 13058	<i>Picea abies</i> koren, Pitztal, Austrija	EU587341	AY674445	/	/
61.	<i>P. olsonii</i>	NRRL 31467	Kutikula bušača zrna kafe; Meksiko	AY484931	DQ645798	/	/
62.		NRRL 35687	Pluta od kore <i>Quercus suber</i> , Algarve, Portugal	EF200100	EF198567	/	/
63.		Nepoznato	Plod paradajza, Pakistan	LT900496	LT900495	/	/
64.		SZ-18/1	Beli luk, lukovica, Srbija	OR633249	OR644440	OR664157	OR664143
65.		SZ-18/2	Beli luk, lukovica, Srbija	OR633250	OR644441	OR664158	OR664144
66.		SZ-18/3	Beli luk, lukovica, Srbija	OR633251	OR644442	OR664159	OR664145
67.		SZ-16-2/2	Beli luk, lukovica, Srbija	OR633252	OR644443	OR664160	OR664146
68.		LiP/3	Limun, plod, Srbija	/	/	/	/
69.	<i>P. polonicum</i>	LiP/4	Limun, plod, Srbija	/	ON988100	/	/
70.		ParP/3	Paradajz, plod, Srbija	/	/	/	/
71.		CBS 222.28 = NRRL 995	Zemljište, Poljska	AF033475	AY674305	KU896848	JN406609
72.		F775	Koren šećerne repe, Ajdaho, SAD	MG714841	MG714868	MG714825	MG714849
73.		MSS725	Feces činčile, Peking, Kina	MZ157157	MZ220669	/	/
74.		TBS412	Feces mrmota, Peking, Kina	MZ157158	MZ220672	/	/
75.	<i>P. solitum</i>	CBS 424.89 = FRR 937	Nepoznato, Nemačka	AY373932	AY674354	KU896851	KU904363
76.		CNU 4096	Plod jabuke, Daegu, Korea	HQ213935	HQ225721	/	/
77.	<i>P. viridicatum</i>	CBS 390.48 = DTO 005-C9 = FRR 963	Vazduh, Vašington (DC), SAD	AY373939	AY674295	KU896856	JN121511
78.	<i>T. aerius</i>	CBS 140611 ^T	Vazduh u prostoriji, Kina	KU866647	KU866835	KU866731	KU866991
79.	<i>T. albobiverticillius</i>	CBS 133440 ^T	Trulo lišće širokolisnog drveta, Tajvan	HQ605705	KF114778	KJ885258	KM023310
80.		CBS 140498	Vazduh iz sistema za ventilaciju, Kina	KR855658	KR855648	KR855653	KR855663

81.		NFCCI 1919 ^T	Opali truli plodovi <i>Terminalia bellerica</i> (Combretaceae), Maharaštra, Indija	MH909062	MH909064	MH909068	MH909066
	<i>T. amyrossmaniae</i>						
82.		NFCCI 2351	Opali truli plodovi <i>Terminalia bellerica</i> (Combretaceae), Maharaštra, Indija	MH909063	MH909065	MH909069	MH909067
83.		CBS 147.78 ^T	Zemljište, Egipat	JN899323	KJ865720	KJ885260	KM023305
	<i>T. assiutensis</i>						
84.		CBS 645.80	<i>Gossypium</i> sp. (pamuk), Indija	JN899334	KF114802	/	/
85.		CBS 133442 ^T	Kućna prašina, Južna Afrika	KF114747	KF114789	KJ775418	KM023288
	<i>T. atroroseus</i>						
86.		CBS 133449	Feces miša, Danska	KF114744	KF114788	/	/
87.	<i>T. austrocalifornicus</i>	CBS 644.95 ^T	Zemljište, SAD	JN899357	KJ865732	KJ885261	/
88.	<i>T. brasiliensis</i>	CBS 142493 ^T	Med <i>Melipona scutellaris</i> ; Resife, Pernambuko, Brazil	MF278323	LT855560	LT855563	LT855566
89.	<i>T. convolutus</i>	CBS 100537 ^T	Zemljište, Nepal	JN899330	KF114773	/	JN121414
90.		CBS 320.48 ^T	Koža, SAD	KJ865740	KJ865723	KJ885268	KM023285
	<i>T. diversus</i>						
91.		DTO 244-E6	Kućna prašina, Novi Zeland	KJ775712	KJ775205	/	/
92.	<i>T. erythromellis</i>	CBS 644.80 ^T	Zemljište obale potoka, Novi Južni Vels, Australija	JN899383	HQ156945	KJ885270	KM023290
93.	<i>T. flavus</i>	CBS 310.38	Nepoznato, Novi Zeland	JN899360	JX494302	KF741949	JF417426
94.	<i>T. heiheensis</i>	HMAS 248789 ^T	Trulo drvo, Kina	KX447526	KX447525	KX447532	KX447529
95.	<i>T. islandicus</i>	CBS 338.48	Nepoznato, Kejptaun, Južna Afrika	KF984885	KF984655	KF984780	KF985018
96.		CLP/3	Crni luk, lukovica, Srbija	MN311444	MN306500	MN306508	MN306516
97.		CLP/4	Crni luk, lukovica, Srbija	MN311445	MN306501	MN306509	MN306517
98.		CLP/5	Crni luk, lukovica, Srbija	MN311446	MN306502	MN306510	MN306518
99.		CLP/7	Crni luk, lukovica, Srbija	MN311447	MN306503	MN306511	MN306519
100.		DnjP/2	Dunja, plod, Srbija	MN311448	MN306504	MN306512	MN306520
101.	<i>T. minioluteus</i>	KrP/7	Kruška, plod, Srbija	MT872096	MW162411	MW115933	MW145145
102.		KroP/1	Krompir, krtola Srbija	MN311449	MN306505	MN306513	MN306521
103.		ParP/2	Paradajz, plod, Srbija	MN311450	MN306506	MN306514	MN306522
104.		PP/14	Pomorandža, plod, Srbija	MN311451	MN306507	MN306515	MN306523
105.		CBS 642.68	Nepoznato	JN899346	KF114799	KJ885273	JF417443

106.		CBS 270.35	<i>Zea mays</i> , SAD	KM066172	KM066129	/	/
107.		CV0383	Nepoznato	JX091487	JX091620	JX140693	/
108.	<i>T. minnesotensis</i>	CBS 142381	Ljudsko uho, SAD	LT558966	LT559083	LT795604	LT795605
109.	<i>T. purpureus</i>	CBS 475.71	Zemljište, Esterel, Francuska	JN899328	GU385739	KJ885292	JN121522
110.		KrP/1	Kruška, plod, Srbija	MT872097	MW162412	MW115934	MW145146
111.		KrP/8	Kruška, plod, Srbija	MT872098	MW162413	/	/
112.		LiP/1	Limun, plod, Srbija	/	ON988098	/	/
113.	<i>T. rugulosus</i>	CBS 371.48	Trule krtole krompira (<i>Solanum tuberosum</i>), SAD	KF984834	KF984575	KF984702	KF984925
114.		CBS 378.48 = NRRL 1073	Tipski izolat <i>P. tardum</i> i <i>P. elongatum</i> , trule grančice, Francuska	KF984832	KF984579	KF984711	KF984927
115.		CBS 137366 = DTO 61-E8	Uzorak vazduha, fabrika piva, Kolil, Belgija	KF984850	KF984572	KF984700	KF984922
116.	<i>T. solicola</i>	DAOM 241015	Zemljište, Južna Afrika	FJ160264	GU385731	KJ885279	KM023295
117.		CBS 133446	Zemljište, Južna Afrika	KF114730	KF114775	/	/
118.	<i>T. systylus</i>	BAFCcult3419	Zemljište, Argentina	KP026917	KR233838	KR233837	/
119.	<i>T. trachyspermus</i>	CBS 373.48	Nepoznato, SAD	JN899354	KF114803	KJ885281	JF417432
120.		CBS 118437	Zemljište, Maroko	KM066169	KM066127	/	/
121.		CBS 162.67	Nepoznato	JN899394	KF114771	KJ885282	KM023289
122.	<i>T. ucrainicus</i>	CBS 127.64	Zemljište tretirano cijanimidom, Nemačka (bivši tipski izolat <i>T. ohienensis</i>)	KM066173	KF114772	/	/
123.	<i>T. udagawae</i>	CBS 579.72	Zemljište, Japan	JN899350	KF114796	KX961260	/

3.6. Provera patogenosti dobijenih monosporičnih izolata gljiva

Patogenost identifikovanih izolata *Penicillium* i *Talaromyces* sa voća i povrća proverena je veštačkom inokulacijom plodova, krtola, korena i lukovica biljaka domaćina. Test patogenosti je izveden na zdravim, izvornim domaćinima. Plodovi, krtole, koreni i lukovice su prvo oprani pod mlazom tekuće česmenske vode, potom je sledila površinska sterilizacija 70% etanolom i onda su ostavljeni da se prosuše na vazduhu, na sobnoj temperaturi. Suspenzija spora je pripremana sa kultura *Penicillium* i *Talaromyces* odgajenim na MEA u inkubatoru na temperaturi od 25°C, starosti 10 dana. Koncentracija suspenzije podešena je na finalnu (10⁶ konidija/ml) koristeći Nojbauerov (*nem. Neubauer*) hemocitometar. Svaki domaćin inokulisan je u tri ponavljanja sa 20 µl suspenzije odgovarajućeg izolata pomoću automatske mikropipete i sterilnog nastavka. Kontrolne biljke-domaćini su inokulisani sa istom količinom sterilne destilovane vode. Plodovi su potom smešteni u plastične kutije i inkubirani su 7 dana na temperaturi od 25°C i sa relativnom vlažnošću vazduha od

95%. Ocena simptoma i merenje lezija urađena je nakon isteka inkubacionog perioda, merenjem horizontalnog i vertikalnog prečnika lezija. Sa veštački inokulisanih biljaka domačina urađena je reizolacija na MEA podlogu. Kulture su inkubirane pod istim uslovima kao i prilikom izolacije. U cilju potvrde Kohovih postulata ispitane su makromorfološke i mikromorfološke odlike dobijenih reizolata.

3.7. Statistička analiza

Analiza numeričkih podataka je rađena u programu IBM SPSS Statistics (verzija 24, IBM, SAD). Nakon identifikovanja izolata do nivoa vrste polifaznim pristupom, urađene su statističke analize. Osnovni statistički pokazatelji (minimum, maksimum, srednja vrednost, standardna devijacija) su izračunavani za vrednosti porasta kolonija svih testiranih izolata na svim navedenim podlogama i temperaturama inkubacije. Utvrđivanje razlika u srednjim vrednostima porasta između izolata jedne vrste, a potom i više različitih vrsta na jednoj podlozi/temperaturi vršeno je primenom dvofaktorske analize varijanse (*eng. nested ANOVA*). Za naknadna poređenja je korišćen Tukijev (*eng. Tukey*) test. U ogledu koji se odnosio na patogenost, primenjeni su jednofaktorska ANOVA i naknadni Tukijev test kako bi se utvrdile statistički značajne razlike u prečniku lezija koje su izazvali pripadnici različitih izolovanih *Penicillium/Talaromyces* spp. na jednom, istom tipu biljke-domačina. Kod eksperimenata koji su za rezultat imali poređenje prosečnih vrednosti rasta/lezija samo dve grupe, korišćen je Studentov t-test za proveru statističke značajnosti. U svim testiranjima je korišćen nivo značajnosti od 5%. Minimalne, maksimalne i srednje vrednosti su izračunate i za dimenzije spora (dužina i širina) svih odabranih izolata. Svi grafikoni su izrađeni u programu Microsoft Excel (Microsoft Korporacija, SAD).

4. REZULTATI

4.1. Uzorkovanje i simptomi plavih i zelenih truleži na plodovima voća i povrća u Srbiji

U vremenskom periodu 2015-2020. godine na teritoriji Republike Srbije ukupno je sakupljeno 729 uzoraka voća i povrća sa simptomima plavih i zelenih truleži: jabuke, kruške, dunje, limunovi, mandarine, pomorandže, grejpfrut, nektarine, kivi, paradajz, crni luk, beli luk, krompir (ukupno 14 različitih domaćina, Tabela 5). Na njima su uočeni neki od sledećih simptoma: 1) blago ulegnute pege, braon boje, kružnog oblika; 2) prisustvo bele ili žute micelije na površinskom tkivu plodova; 3) gubitak boje i pojava vodenaste konzistencije inficiranog tkiva; 4) pojava konidijalne mase plave, plavozelene ili zelene boje (Slika 2, A-H). Na pojedinim uzorcima su zapaženi veći segmenti tkiva zahvaćeni infekcijom, a kod uzoraka citrusnog voća je bilo i plodova gde je skoro polovina bila prekrivena plavozelenim sporama (Slika 2E). Nije zapažena pravilnost u pojavi simptoma u odnosu na vrstu uzorka (voće/povrće), ili biljni organ (plod, lukovica, krtola,...).

Sa plodova sa karakterističnim simptomima truleži i plavo/zelene plesni urađene su izolacije korišćenjem standardnih fitopatoloških metoda. Ako se na čvrstoj podlozi razvilo više kolonija gljiva različite makromorfologije, ove kulture su tretirane kao mešovite. S obzirom da tada nije bilo moguće sa velikom sigurnošću utvrditi šta je primarni a šta sekundarni agens truleži ploda, ovi uzorci i izolati su izuzimani iz daljeg ispitivanja.

Sa prikupljenih 729 uzoraka voća i povrća ukupno je dobijeno 173 izolata. Broj izolata prikupljenih sa svake od biljaka-domaćina je prikazan u Tabeli 5. U odnosu na domaćine, najveći broj izolata je sakupljen sa plodova kruške (67), potom sa jabuka i lukovica belog luka (14), crnog luka (13) itd.

Tabela 5. Prikaz sakupljenih uzoraka i dobijenih izolata vrsta *Penicillium* i *Talaromyces*

Biljke domaćini	Broj prikupljenih uzoraka	Broj dobijenih izolata	Broj detaljno okarakterisanih izolata	
Jabuka	94	14	2	
Kruška	238	67	14	
Dunja	31	7	3	
Nektarina	33	11	4	
Limun	39	12	5	
Pomorandža	35	5	2	
Mandarina	40	4	2	
Grejpfrut	26	5	2	
Kivi	29	5	2	
Paradajz	39	11	4	
Crni luk	48	13	5	
Beli luk	51	14	7	
Krompir	11	2	1	
Šargarepa	15	3	1	
Ukupno:	14	729	173	54



Slika 2. Simptomi plave i zelene truleži na uzorcima: **A.** pomorandža, **B.** jabuka, **C.** kruška, **D.** mandarina, **E.** limun, **F.** paradajz, **G.** beli luk, **H.** paradajz.

4.2. Morfološke odlike izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp. na hranljivim podlogama i preliminarna identifikacija

Na osnovu makro- i mikromorfoloških odlika i intenziteta rasta na hranljivim podlogama, odabrani izolati su svrstani u dve veće grupe. Prva grupa izolata obuhvatila je kulture koje imaju intenzivniji rast na CYA i MEA (prečnik kolonija >15 mm za 7 dana), umerenu ili intenzivnu radijalnu segmentaciju na CYA, sivozelene, zelene ili plavozelene spore, i terverticilatne ili kvaterverticilatne konidiofore. Drugu grupu izolata činile su kolonije sa slabijim rastom na CYA i MEA (prečnik <15 mm za 7 dana), kompaktnog oblika na CYA, sa tamnozelenim sporama i biverticilatnim konidioforima. Na osnovu referentnih ključeva za identifikaciju (Frisvad i Samson 2004; Pitt i Hocking 2009; Samson i dr. 2010; Visagie i dr. 2014b; Yilmaz i dr. 2014), preliminarno je utvrđeno da izolati prve grupe odgovaraju odlikama roda *Penicillium*, dok osobine izolata druge morfogrupe odgovaraju karakteristikama roda *Talaromyces*. Daljom analizom osobina unutar ovih dveju grupa, izolati *Penicillium* spp. razvrstani su u 9 podgrupa (1-9), a izolati *Talaromyces* spp. podeljeni su u dve podgrupe (10-11). U daljem tekstu prvo su predstavljene morfološke odlike kultura, dok su vrednosti rasta na testiranim podlogama detaljno komentarisane u delu koji se tiče statističkih analiza rezultata.

Prva podgrupa izolata (Slika 3) obuhvatila je one čiji su reprezentativni predstavnici bili poreklom sa plodova dunje (DnjP/1, DnjP/3) i kivija (KiP/1, KiP/2), a koje su ispoljile sličan morfofenotip pre svega na MEA. Na ovoj podlozi, izolati su formirali fascikulatne (*eng. fasciculate*) kolonije plavozelene boje (boja spora), sa blagom radialnom segmentacijom, intenzivnom konidiogenezom, svetlokrem-žutom bojom naličja i kapljicama providnog eksudata (kod većine izolata). Micelija bele boje, širine do 5 mm je bila uočljiva na na ivicama kolonija. Sličan izgled kultura je zabeležen i na CYA podlozi, uz manje varijacije. Izolate iz ove podgrupe odlikovale su i kolonije brzog porasta na sve tri inokulisane podloge (CYA, MEA, CREA) i jaka promena boje CREA podloge (intenzivna produkcija kiseline). Na mikroskopskim preparatima uočeni su terverticilatni konidiofori sa drškama (*eng. stipes*) glatkog zida, cilindričnim metulama i fijalidama, i elipsoidnim sporama glatkog zida (Slika 14). Dimenzije konidija (minimum-prosek-maksimum) iznosile su $3,02-3,72-4,60 \mu\text{m} \times 2,76-3,58-4,44 \mu\text{m}$. Uzevši u obzir navedene karakteristike, izolati ove grupe su uslovno identifikovani kao *P. expansum*.

U drugu podgrupu (Slika 4) svrstani su izolati sa korena šargarepe (ŠaP/1) i plodova paradajza (ParP/1), pomorandže (PP/12), kruške (19-10, 19-11, 19-12, 19-13, 19-14) i nektarine (NeP/1, NeP/2, NeP/4). Kulture ove podgrupe imale su ravne kolonije na MEA, fascikulatne teksture, kompaktne forme (odsustvo segmenata) i intenzivne sporulacije, sa sporama zelene ili plavozelene boje i krem-žutom bojom sa naličja. Na ivicama kolonija je micelija bele boje širine do 3 mm. Brzi porast je registrovan na sve tri testirane podloge, kao i intenzivna promena boje CREA podloge. Na CYA je uočena veća morfološka varijabilnost u odnosu na MEA, u pogledu teksture i prisustva/odsustva segmentacije i boje naličja. Konidiofori su imali terverticilatni tip grananja i zbijene elemente. Drške je odlikovao gladak zid, a metule i fijalide su bile cilindričnog oblika. Spore su elipsoidne, sa glatkim ćelijskim zidom. Veličine konidija bile su $3,03-3,56-4,28 \times 3,00-3,80-4,48 \mu\text{m}$. S obzirom na ispoljenu varijabilnost u morfološkom izgledu na CYA i MEA, izolati ove podgrupe su preliminarno identifikovani do nivoa roda, odnosno kao *Penicillium* sp.

Gljive čiji su predstavnici izolati sa plodova jabuke (JP/1, JP/4), grejpfruta (GPP/1, GPP/2), mandarine (MP/4, MP/5), limuna (LiP/2) i nektarine (NeP/3) objedinjeni su u treću morfološku podgrupu (Slika 5). Ravne kolonije, bela micelija u vidu ivice širine do 2 mm, intenzivna produkcija zelenih spora i bledokrem-žuta boja naličja kultura su bile zajedničke odlike ove podgrupe na MEA podlozi. Tekstura kolonija na istom medijumu je blago varirala među izolatima – od fascikulatne do sinematozne, sa blago izraženim segmentima, ili bez njih. Izolati ove podgrupe su, kao kod prethodne dve, ispoljili brzi porast na sve tri podloge i jaku produkciju kiseline na CREA. Konidiogeni aparat se sastojao od terverticilatnih metlica, cilindričnih metula i fijalida, i elipsoidnih spora glatkog zida. Dimenzije konidija iznosile su $2,78-3,79-4,97 \times 2,63-3,57-4,84 \mu\text{m}$. Na osnovu svih zapaženih morfoloških odlika, izolati ove podgrupe su uslovno identifikovani kao *Penicillium* sp.

U četvrtu morfološku podgrupu (Slika 6) svrstani su izolati sa plodova kruške (KrP/2, KrP/5, KrP/6). Gljive iz ove podgrupe imale su radialno segmentisane kolonije plišaste teksture i krem-žuto naličje na CYA. Na MEA podlozi, kulture su bile ravne, kompaktne (bez podele na segmente), sa fascikulatnom ili krustoznom (*eng. crustose*) teksturom i svetlokrem-žutom bojom naličja. Kulture je odlikovao intenzivan porast i sporulacija, i sivozelene spore na obe navedene podloge. Intenzivan porast je takođe zabeležen na trećoj testiranoj podlozi (CREA), zajedno sa umereno jakom produkcijom kiseline. Micelija na ivicama kolonija je bila bele boje na sva tri medijuma, različite širine (1,5-3 mm). Na CYA su uočene bezbojne kapljice eksudata, a na CREA je eksudat bio ljubičast ili bezbojan. Konidiofori su bili terverticilatni, sa drškama čiji je zid bio nazubljen, i metulama i fijalidama cilindričnog oblika. Spore su bile globozne (*eng. globose*) ili subglobozne (*eng. subglobose*), sa ćelijskim zidom bez zubaca (Slika 15). Dimenzije konidija iznosile su $3,25-4,03-5,00 \mu\text{m} \times 3,25-3,92-5,00 \mu\text{m}$. Navedene fenotipske osobine ovih izolata odgovaraju opisu vrste *P. crustosum*.

Morfološka podgrupa 5 (Slika 7) obuhvatila je izolate poreklom sa lukovica belog luka (SZ-16/2) i plodova kruške (KrP/3, KrP/4, KrP/9). Kulture ovih gljiva imale su intenzivan rast na CYA i MEA, i slab rast na CREA, kao i odsustvo eksudata na svim inokulisanim čvrstim medijumima. Intenzivan porast na prve dve podloge pratila je i jaka produkcija konidija, koje su bile sivozelene boje. Micelija je bila bele boje i različite širine (0,5-1,5 mm), vidljiva samo na marginama kulture. Tekstura na CYA je bila plišasto-fascikulatna sa blagom radijalnom segmentacijom (u centralnom delu) i žuto-braon naličjem. Na MEA, kolonije su bile predominantno ravne, kompaktnog oblika, fascikulatne teksture, nepravilno rečkasto-končaste (*eng. fimbriate*) ivice i zelenkastog naličja. Izolat KrP/9 je izgledao nešto drugačije na MEA, sa blago uzdignutim, funikuloznim centralnim delom i plišastom teksturom na periferiji. Na CREA podlozi nije bilo produkcije kiseline. Metlice su sa terverticilatnim tipom grananja, cilindričnim metulama glatkog zida, fijalidama istog oblika i neornamentisanim sporama čiji je oblik varirao od subgloboznog, preko elipsoidnog do cilindričnog (Slika 16). Prosečne dimenzije konidija bile su $2,92-4,22-5,25 \mu\text{m} \times 1,92-3,09-3,92 \mu\text{m}$. Uzimajući u obzir uočene karakteristike, izolati ove grupe su preliminarno identifikovani kao *P. italicum*.

Gljive uzorkovane sa lukovica crnog (CLP/2) i belog luka (SZ-21/1 i SZ-21/2) činile su podgrupu 6 (Slika 8). Izolati ove podgrupe odlikovao je umereno brz rast na CYA, brz rast na MEA i slab rast na CREA. Zajedničke osobine na prve dve navedene podloge su i intenzivna sporulacija sa sporama svetloplavozelene boje i bela micelija prisutna kao rub kulture (2-3 mm širine). Na CYA podlozi kolonije su bile kompaktne sa blagim radijalnim segmentima, vidljivim u centru, plišaste teksture sa blagom granulacijom. Sa naličja, kulture su bile narandžasto-braon boje u centru, a svetložutozelene ka periferiji. Na MEA kolonije su bile kompaktne, sa granularnom do koremijalnom (*eng. coremial*) teksturom i naličjem svetlozelene boje sa svetložutim ili svetložutonarandžastim centrom. Slab porast na CREA bio je praćen i izostankom produkcije kiseline. Samo su na jednom izolatu (SZ-21/1 na CYA) uočene kapljice žutog eksudata. Terverticilatni konidiofori sa zbijenim elementima i kratkim drškama hrapavog zida su uočeni na mikroskopskim preparatima (Slika 17). Metule i fijalide su bile cilindrične, sa istaknutim, suženim vratom. Spore su imale okrugao ili nepravilno okrugao oblik, sa glatkim zidom. Njihove dimenzije iznosile su $2,50-3,50-4,00 \mu\text{m} \times 2,75-3,75-4,25 \mu\text{m}$. Na osnovu navedenih morfoloških osobina, izolati ove podgrupe odgovaraju opisima vrste *P. allii*.

U sedmu podgrupu (Slika 9) objedinjeni su izolati dobijeni sa lukovica belog luka (SZ-18/1, SZ-18/2, SZ-18/3, SZ-16-2/2), ploda limuna (LiP/3, LiP/4) i paradajza (ParP/3). Kulture ovih izolata imale su umeren (CREA) ili umereno brz porast (CYA, MEA). Na CYA, kolonije je odlikovala plišasta tekstura i radijalna segmentacija (zraci su se pružali od centra ka periferiji), ali je bila zapažena i koncentrično-prstenasta podela kultura (slabije izražena). Naličje je kremžuto (SZ-18/1, SZ-18/2, SZ-16-2/2, LiP/3, LiP/4) ili kremžuto sa narandžastom nijansom (SZ-18/3, ParP/3). Na MEA, kolonije su bile kompaktne, ravne, plišasto-funikulozne (*eng. funiculose*) teksture, a sa naličja svetlozelene sa žutim centrom ili svetlozelenožute (cele). Ivica na sve tri čvrste podloge je bela micelija, širine 2-5 mm na CYA, do 2 mm na MEA, i do 0,5 mm na CREA. Produkcija konidija je bila intenzivna na CYA i MEA, pri čemu je na CYA uočena i varijacija u boji konidija, od tamnozelenih do svetloplavozelenih. Na MEA spore su bile zelene sa nijansom plave boje, naročito izraženom u perifernim delovima kolonija (uz samu ivicu). Providne kapljice eksudata su primećene samo kod SZ-18/2 i SZ-16-2/2 na CYA. Na CREA je bila uočljiva jaka promena boje medijuma iz ljubičaste u žutu, tj. jaka produkcija kiseline. Na mikroskopskim preparatima izolata ove podgrupe zabeležene su terverticilatne metlice, sa zbijenim elementima i drškama metlica čiji je zid (fino) nazubljen (Slika 18). Metule i fijalide imale su cilindričan oblik, sa kratkim vratom (fijalide). Konidije su bile subglobozne, glatkih zidova, dimenzija $2,50-3,50-3,75 \mu\text{m} \times 3,75-4,50-4,75 \mu\text{m}$. Na osnovu navedenih odlika, izolati ove grupe su preliminarno identifikovani kao *P. polonicum*.

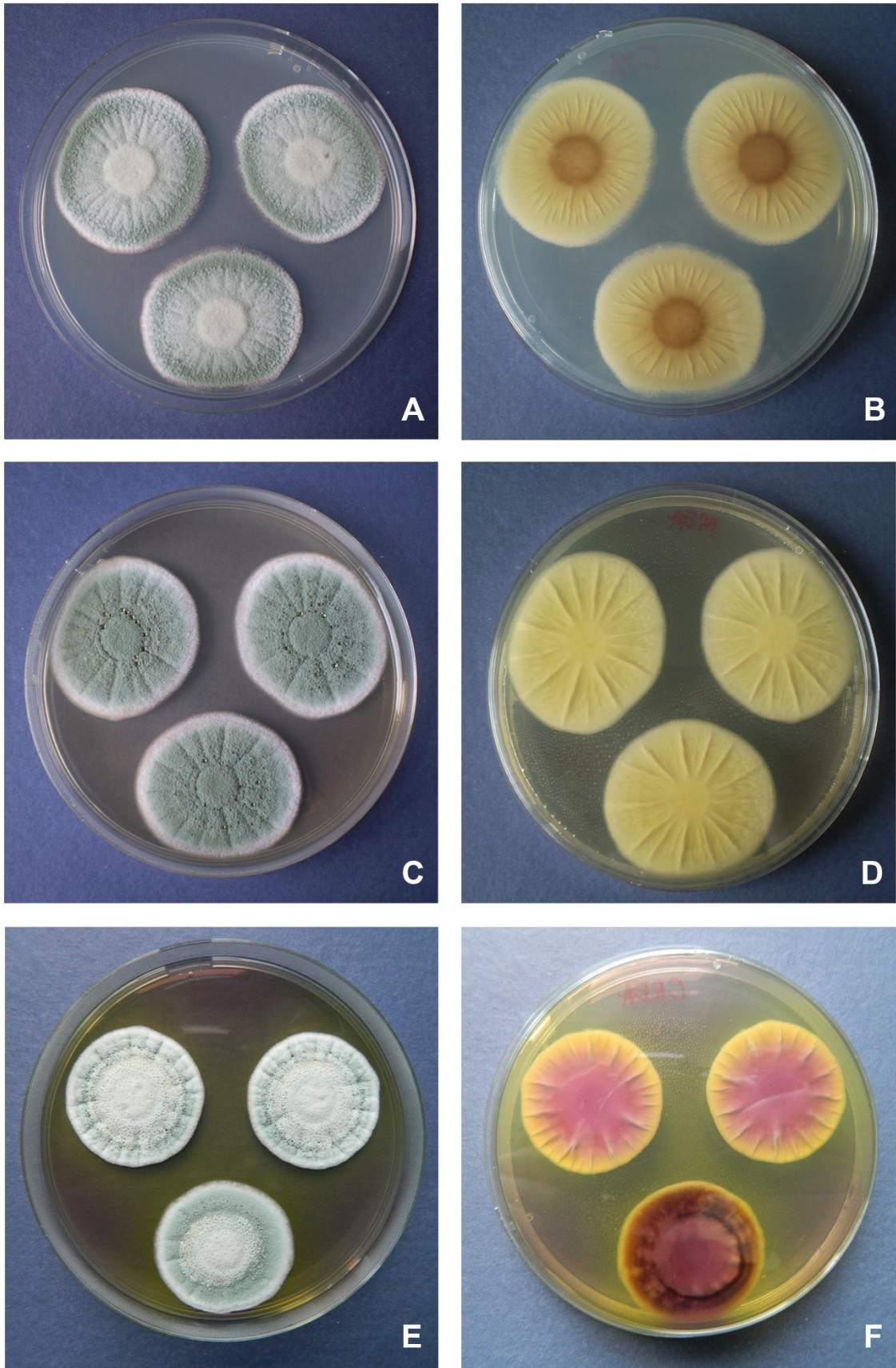
U morfološku podgrupu 8 (Slika 10) svrstan je izolat poreklom sa ploda limuna (21-7) jer je izgled kultura odstupao od prethodno navedenih podgrupa. Uočene su ravne, kompaktne kolonije

plišaste teksture i jake sporulacije, sa maslinastozelenim konidijama i belom micelijom na ivici kulture, širine do 1 mm. Boja kultura sa naličja CYA i MEA je bila zelenkasta. Rast na ove dve podloge je bio umerenog intenziteta, dok na CREA nije bilo vidljivog porasta (samim tim ni produkcije kiseline). Konidiofore je odlikovalo nepravilno grananje, fjalide su bile cilindričnog oblika, a konidije elipsoidne ili cilindrične, vrlo krupne (Slika 19). Prečnici konidija bili su 3,62-6,52-7,75 μm \times 3,04-3,47-3,98 μm . S obzirom na nepravilno grananje metlice, oblik fjalida i krupne konidije, ova grupa izolata identifikovana je kao *P. digitatum*.

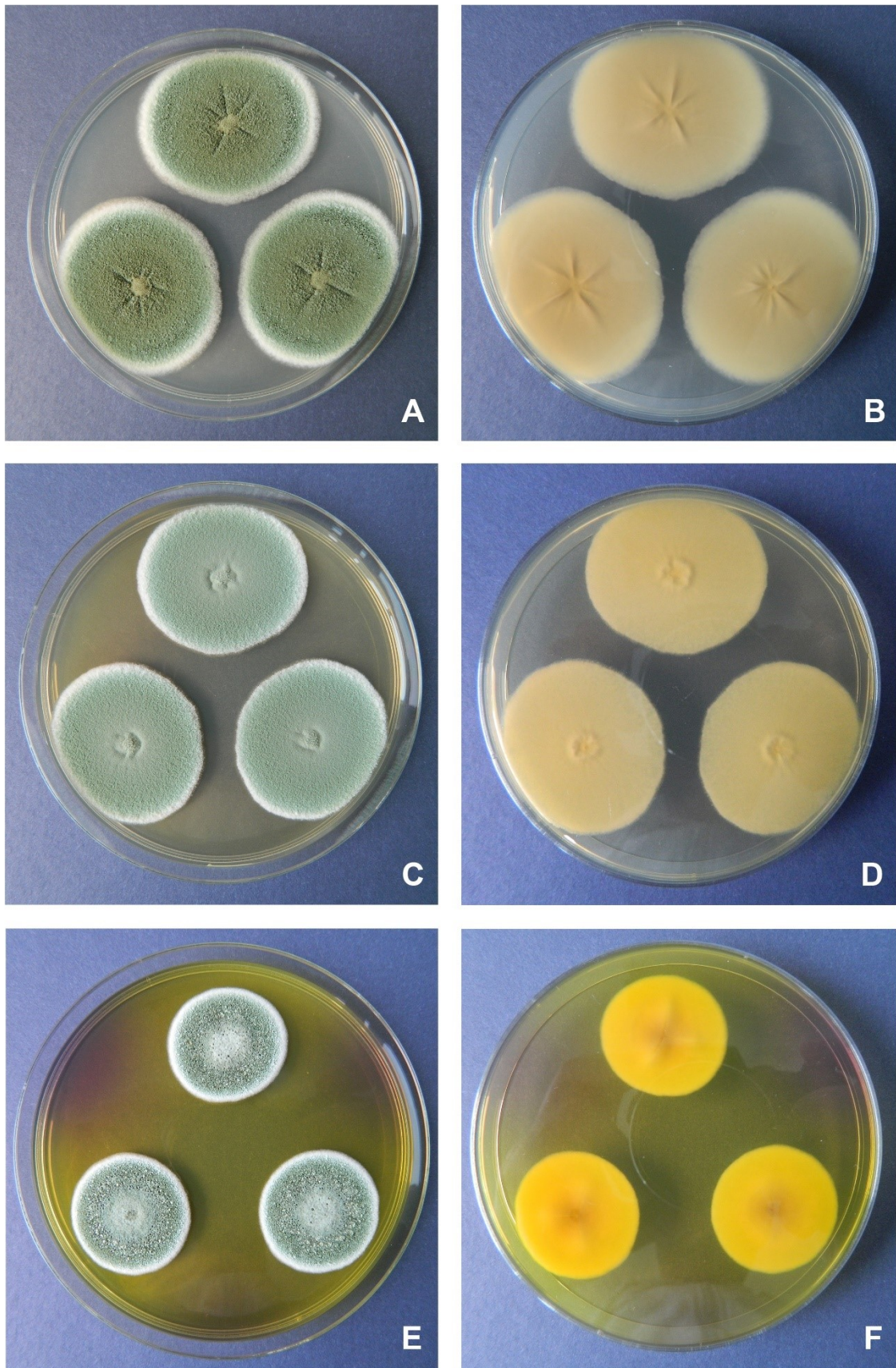
Izolati uzorkovani sa ploda paradajza (SZ-20-6, SZ-20-7) izdvojeni su u devetu morfološku podgrupu (Slika 11). Ove kulture imale su umereno jak porast, belu miceliju na ivicama kolonija (do 1,5 mm širine), intenzivnu sporulaciju i sivozelene spore na CYA i MEA. Tekstura na CYA je bila plišasta sa blagim funikulama, a na MEA umereno funikulozna. Sa naličja, kolonije su na CYA imale svetložutozelenu boju. Naličje kultura na MEA je bilo zelenkaste boje, sa žutonarandžastim centrom. Rast na CREA je bio slab, bez produkcije kiseline. Na ovom medijumu uočena je sporulacija, sa sporama iste boje kao na prve dve podloge. Nije registrovano prisustvo eksudata ni na jednoj od testiranih podloga kod ove podgrupe izolata. Mikroskopskim pregledom izolata (Slika 20), uočeni su terverticilatni konidiofori, sa fjalidama u obliku boce i kratkim vratom. Spore su imale gladak zid i subglobozan ili elipsoidan oblik, dimenzija 2,00-3,53-5,00 μm \times 2,00-3,07-5,00 μm . Navedene karakteristike se u značajnoj meri poklapaju sa opisom vrste *P. olsonii*.

U morfološku podgrupu 10 (Slika 12) svrstani su izolati poreklom sa više različitih domaćina – crnog luka (CLP/3, CLP/4, CLP/5, CLP/7), dunje (DnjP/2), paradajza (ParP/2), krompira (KroP/1), pomorandže (PP/14) i kruške (KrP/7). Gljive ove podgrupe karakterisale su kompaktne, ravne kolonije plišaste teksture i žućkasto-zelenog naličja sa tamnonarandžastim centrom na CYA, i blago izdignute kolonije, vrlo funikulozne teksture i sa naličjem žute boje i žućkastonarandžastim centralnim delom na MEA podlozi. Rast na CREA je bio slabog intenziteta, dok je u produkciji kiseline uočeno blago variranje: od potpunog odsustva (CLP/4, PP/14), preko vrlo slabe, jedva primetne promene boje podloge (CLP/3, CLP/5, CLP/7, KroP/1, KrP/7) do slabe produkcije (DnjP/2, ParP/2). Na mikroskopu su zapaženi biverticilatni konidiofori, sa drškama glatkih zidova, cilindričnim metulama, aceroznim fjalidama i subgloboznim, glatkim konidijama (Slika 21). Prečnici konidija iznosili su 2,44-2,89-3,61 μm \times 2,11-2,57-3,17 μm . Poređenjem pomenutih odlika sa ključevima za identifikaciju preliminarno je utvrđeno da izolati ove podgrupe pripadaju vrsti *T. minioluteus*.

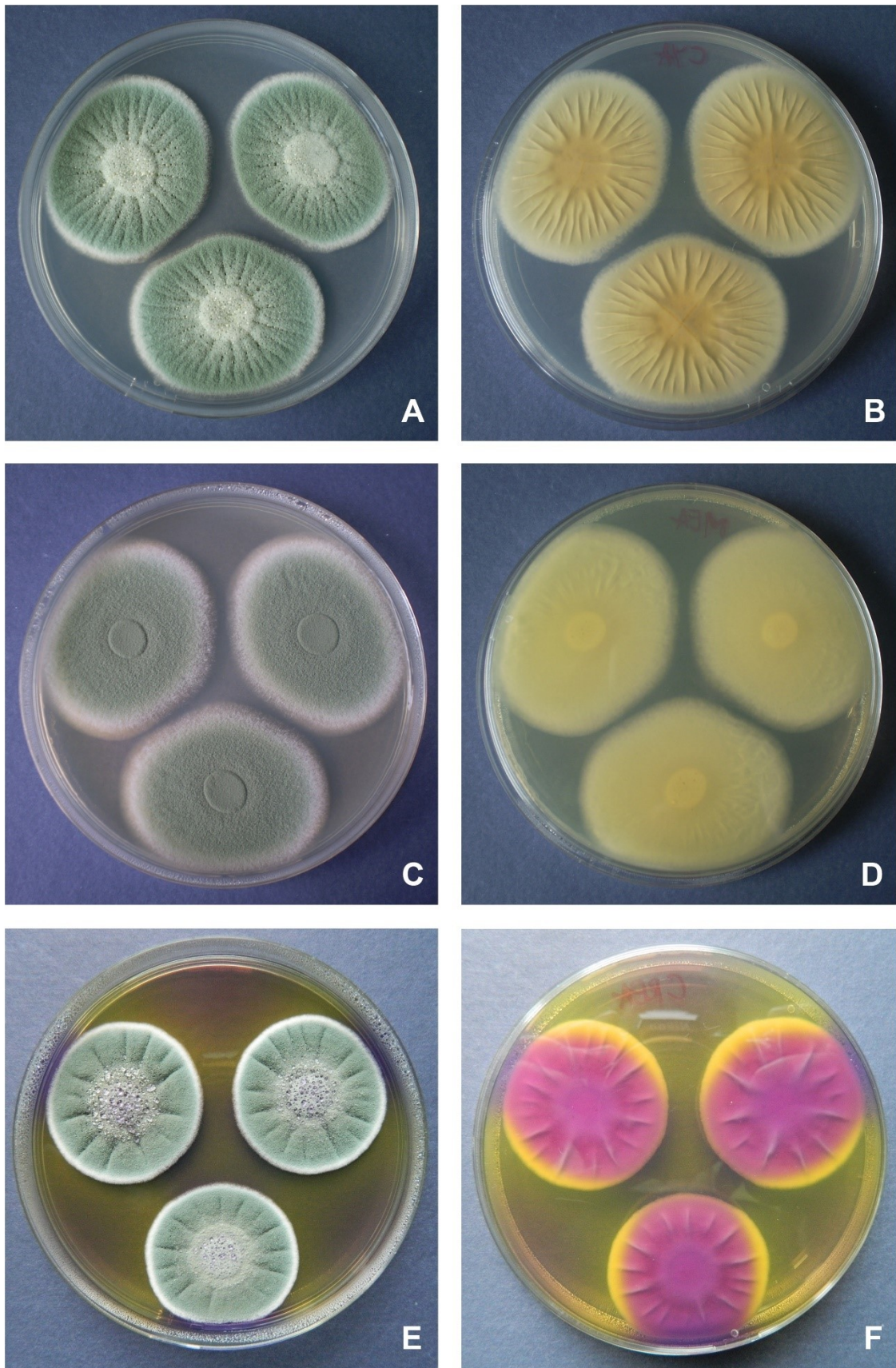
Morfološka podgrupa 11 (Slika 13) obuhvatila je izolate poreklom sa kruške (KrP/1 i KrP/8) i limuna (LiP/1). Kulture ovih izolata odlikovale su kompaktne kolonije slabijeg rasta, sa plišastom teksturom na CYA i MEA podlozi (i naboranim centralnim delom na CYA). Sporulacija na obe podloge je bila vrlo izražena, sa sporama tamnozeleno-žute boje. Micelija je bila vidljiva kao ivica kulture, prljavobeboje boje. Na dve pomenute podloge kolonije su imale svetlokrem-žutu boju sa naličja. Rast na CREA je takođe bio slab, sa slabom produkcijom kiseline ili bez produkcije (nije došlo do promene boje podloge iz ljubičaste u žutu). Na mikroskopskim preparatima izolata ove podgrupe uočeni su biverticilatni konidiofori, sa drškama čiji je zid bez ornamentacije. Metule i fjalide su bile cilindričnog oblika, a konidije elipsoidne, sa hrapavim zidom (Slika 22). Dimenzije konidija iznosile su 2,58-3,04-3,83 μm \times 2,58-2,89-4,08 μm . Na osnovu pobrojanih karakteristika izolati ove podgrupe su preliminarno identifikovani kao *T. rugulosus*.



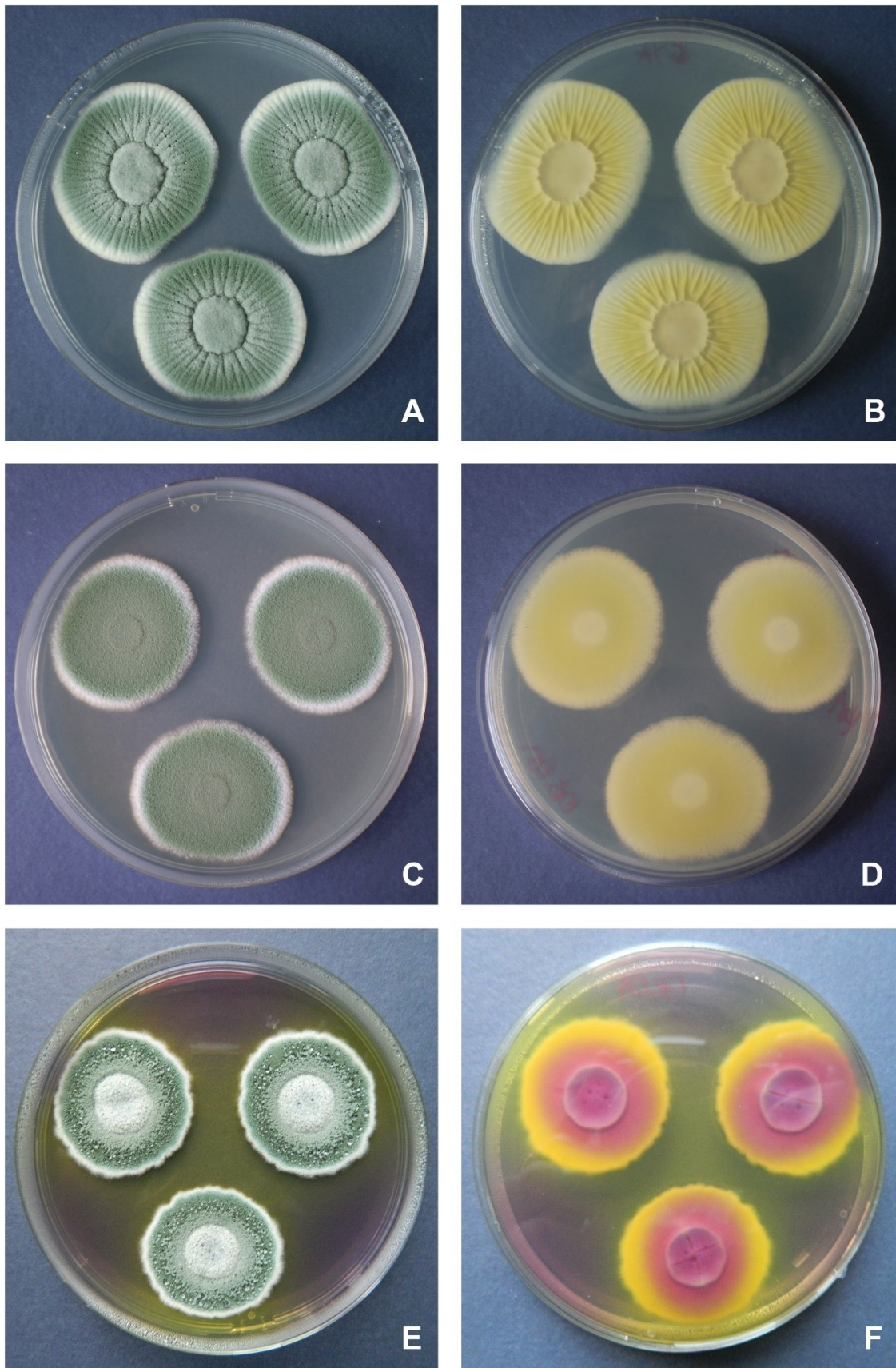
Slika 3. Morfološke odlike izolata (DnjP/1) prve podgrupe, identifikovane kao *P. expansum*, sa lica (leva kolona) i naličja (desna kolona). **A i B.** CYA, **C i D.** MEA, **E i F.** CREA.



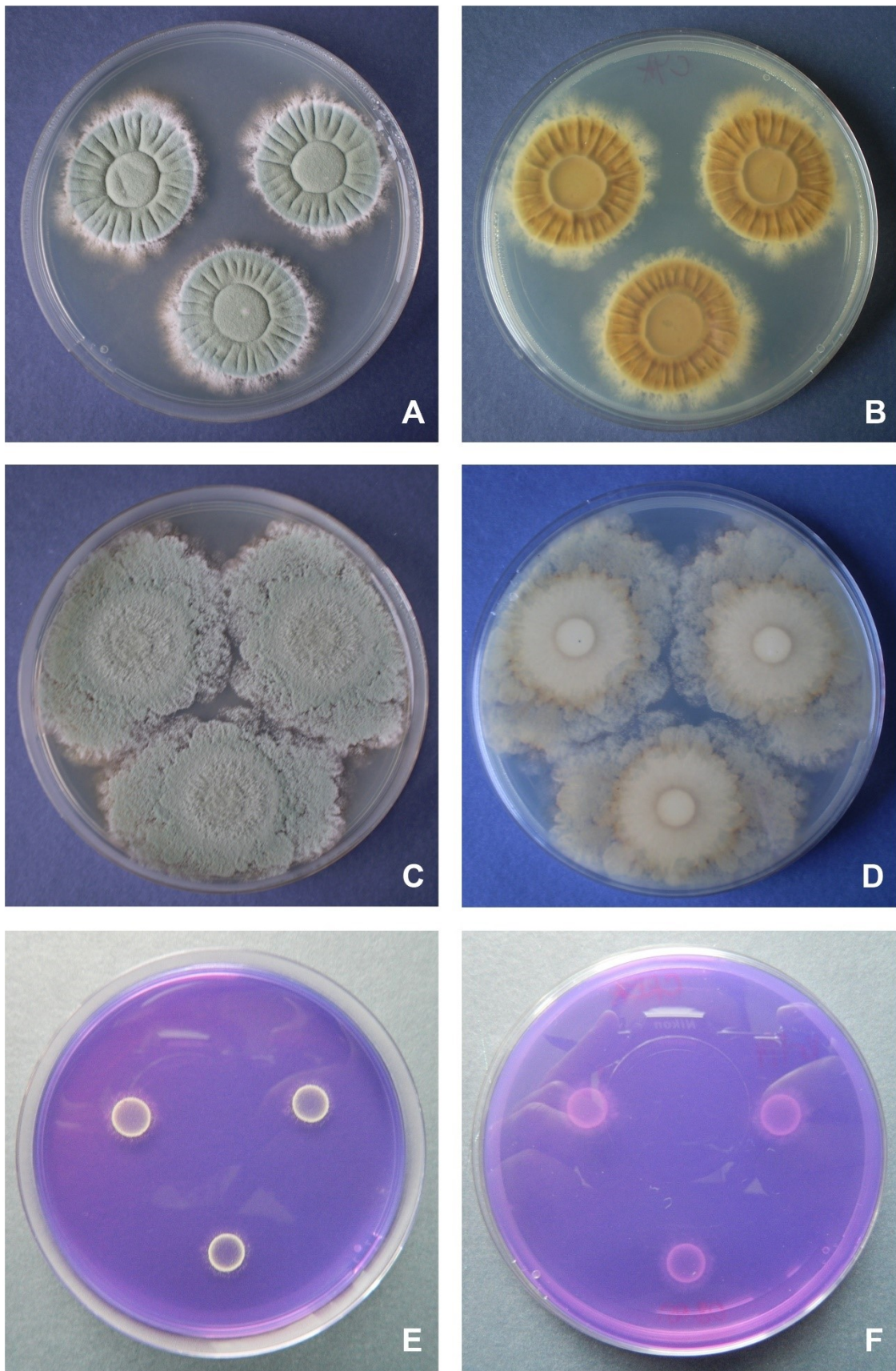
Slika 4. Morfološke odlike izolata druge podgrupe (izolat 19-12), identifikovane kao *P. expansum*, sa lica (leva kolona) i naličja (desna kolona). **A i B.** CYA, **C i D.** MEA, **E i F.** CREA.



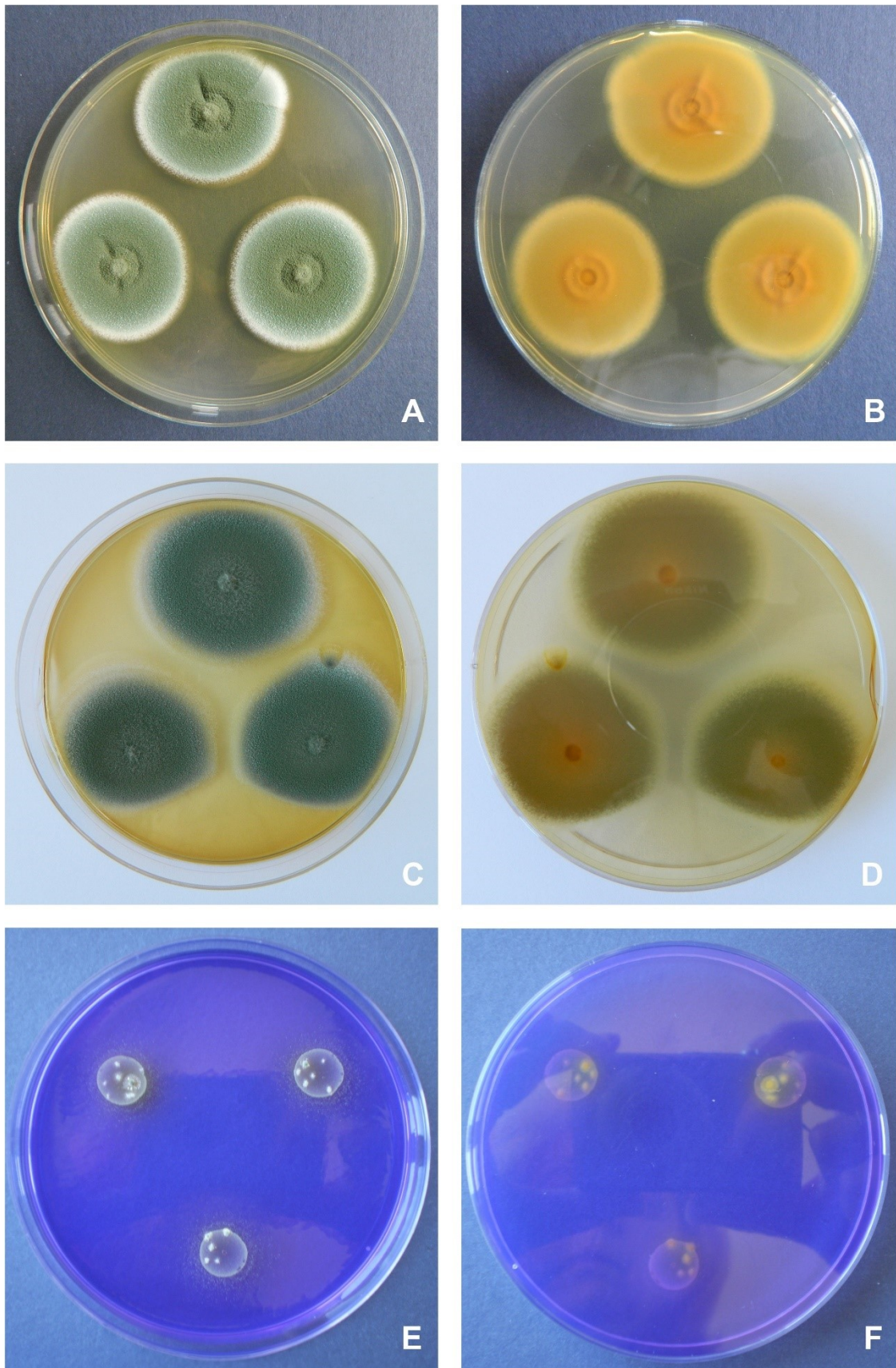
Slika 5. Morfološke odlike izolata treće podgrupe (izolat NeP/3), identifikovane kao *P. expansum*, sa lica (leva kolona) i naličja (desna kolona). **A i B.** CYA, **C i D.** MEA, **E i F.** CREA.



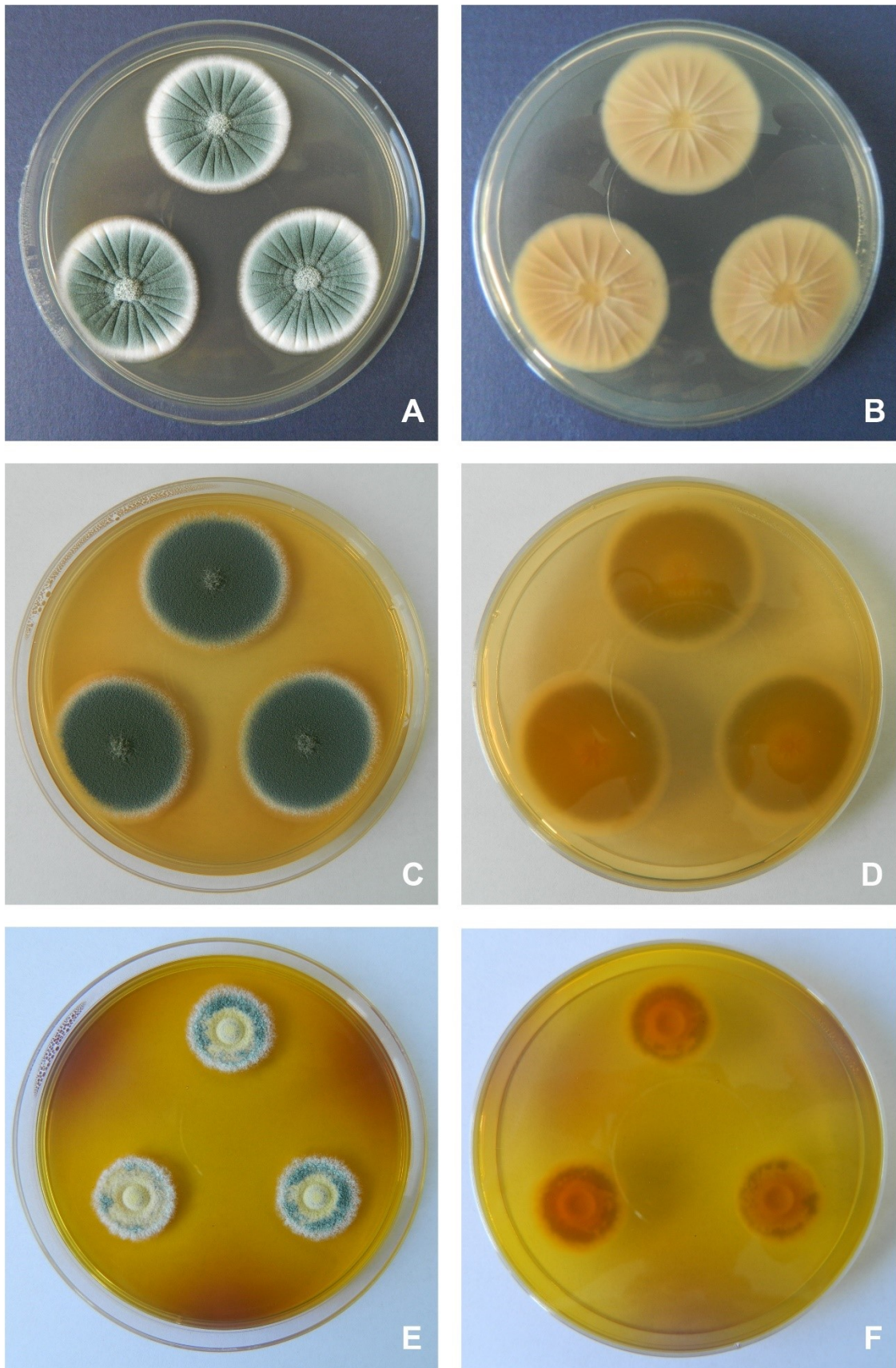
Slika 6. Morfološke odlike izolata četvrte podgrupe (izolat KrP/6), identifikovane kao *P. crustosum*, sa lica (leva kolona) i naličja (desna kolona). **A i B.** CYA, **C i D.** MEA, **E i F.** CREA.



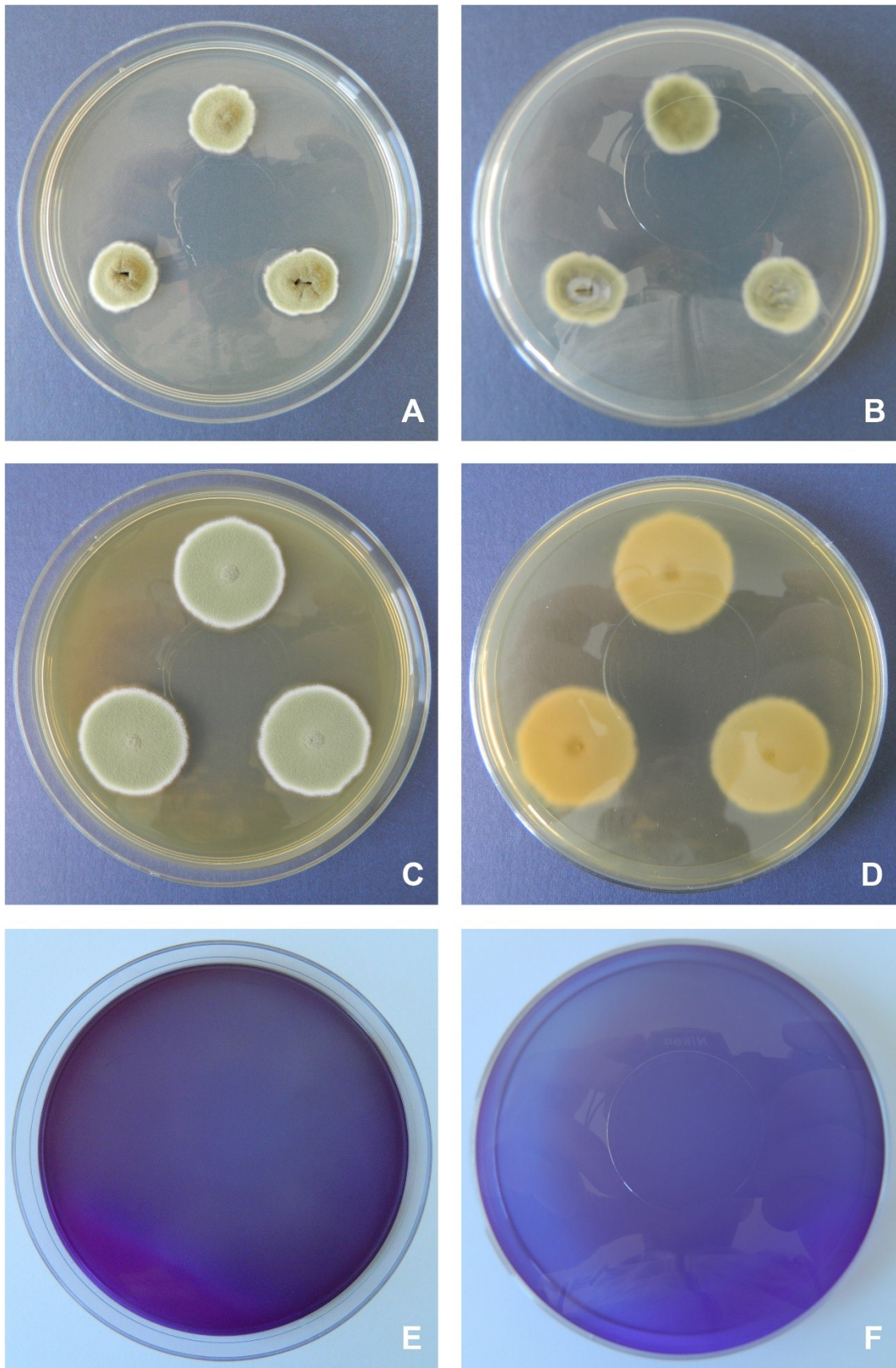
Slika 7. Morfološke odlike izolata pete podgrupe (izolat KrP/4), identifikovane kao *P. italicum*, sa lica (leva kolona) i naličja (desna kolona). **A i B.** CYA, **C i D.** MEA, **E i F.** CREA.



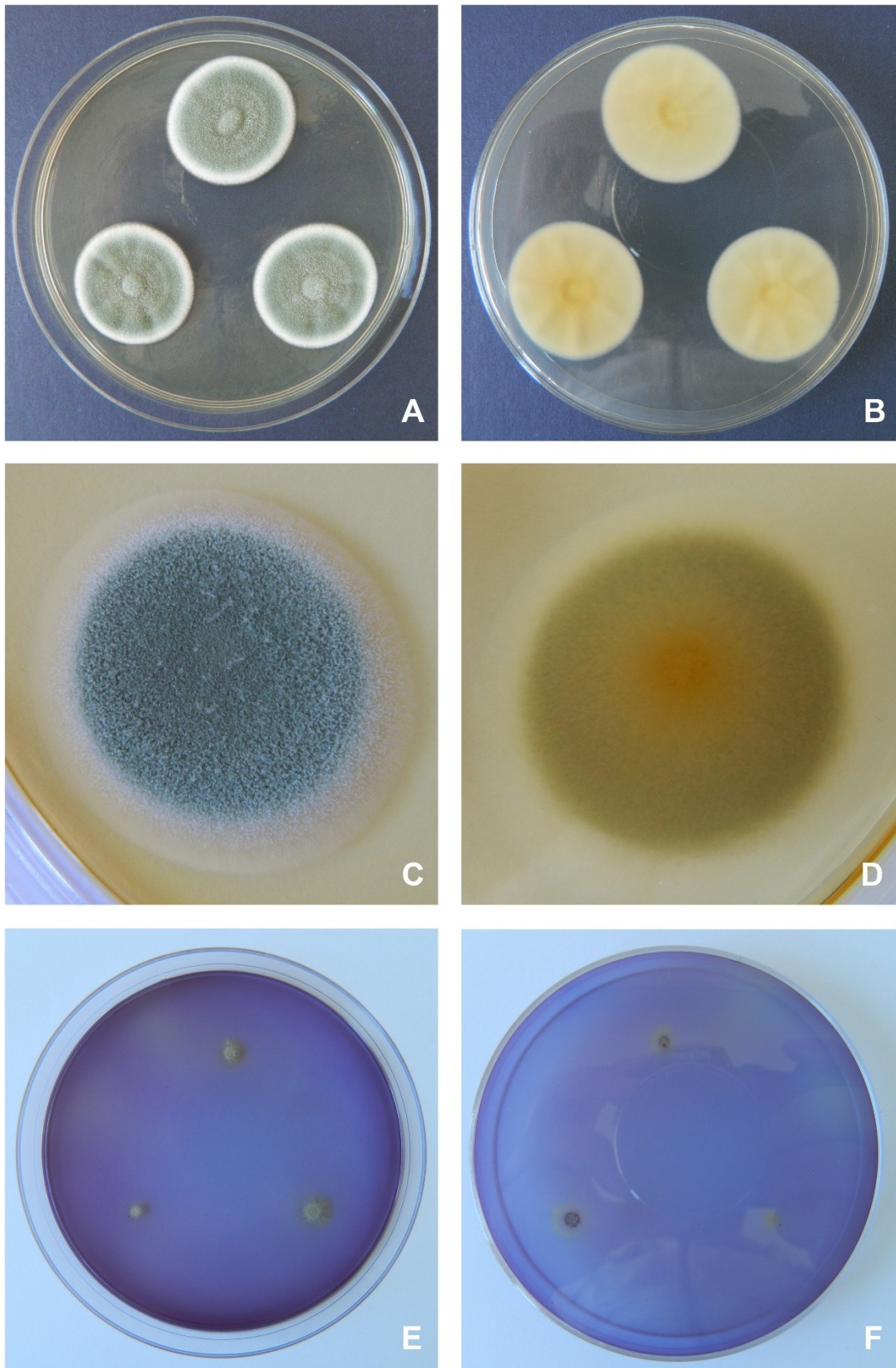
Slika 8. Morfološke odlike izolata šeste podgrupe (izolat CLP-2), identifikovane kao *P. allii*, sa lica (leva kolona) i naličja (desna kolona). **A i B.** CYA, **C i D.** MEA, **E i F.** CREA.



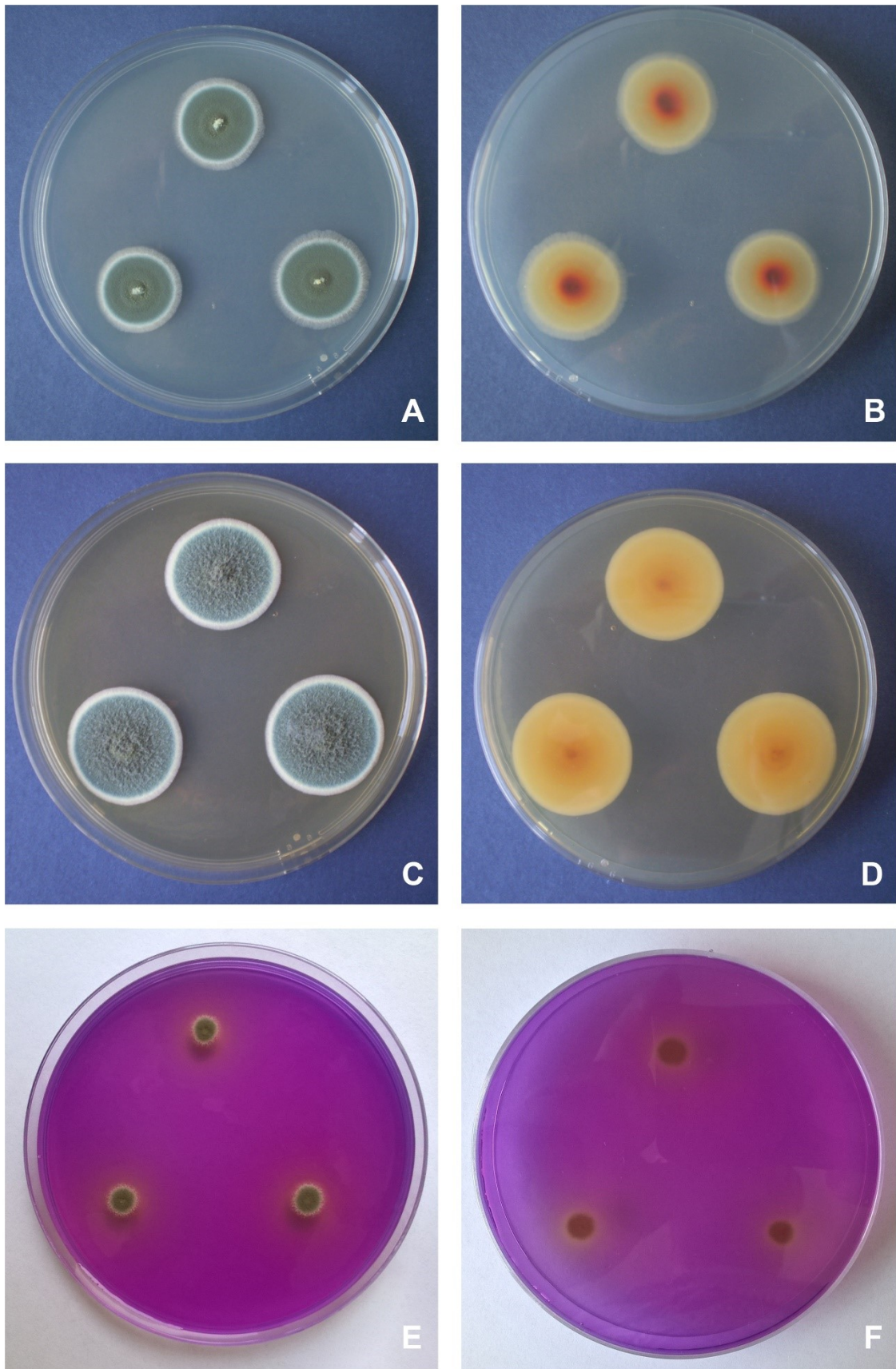
Slika 9. Morfološke odlike izolata sedme podgrupe (izolat SZ-18/1), identifikovane kao *P. polonicum*, sa lica (leva kolona) i naličja (desna kolona). **A i B.** CYA, **C i D.** MEA, **E i F.** CREA.



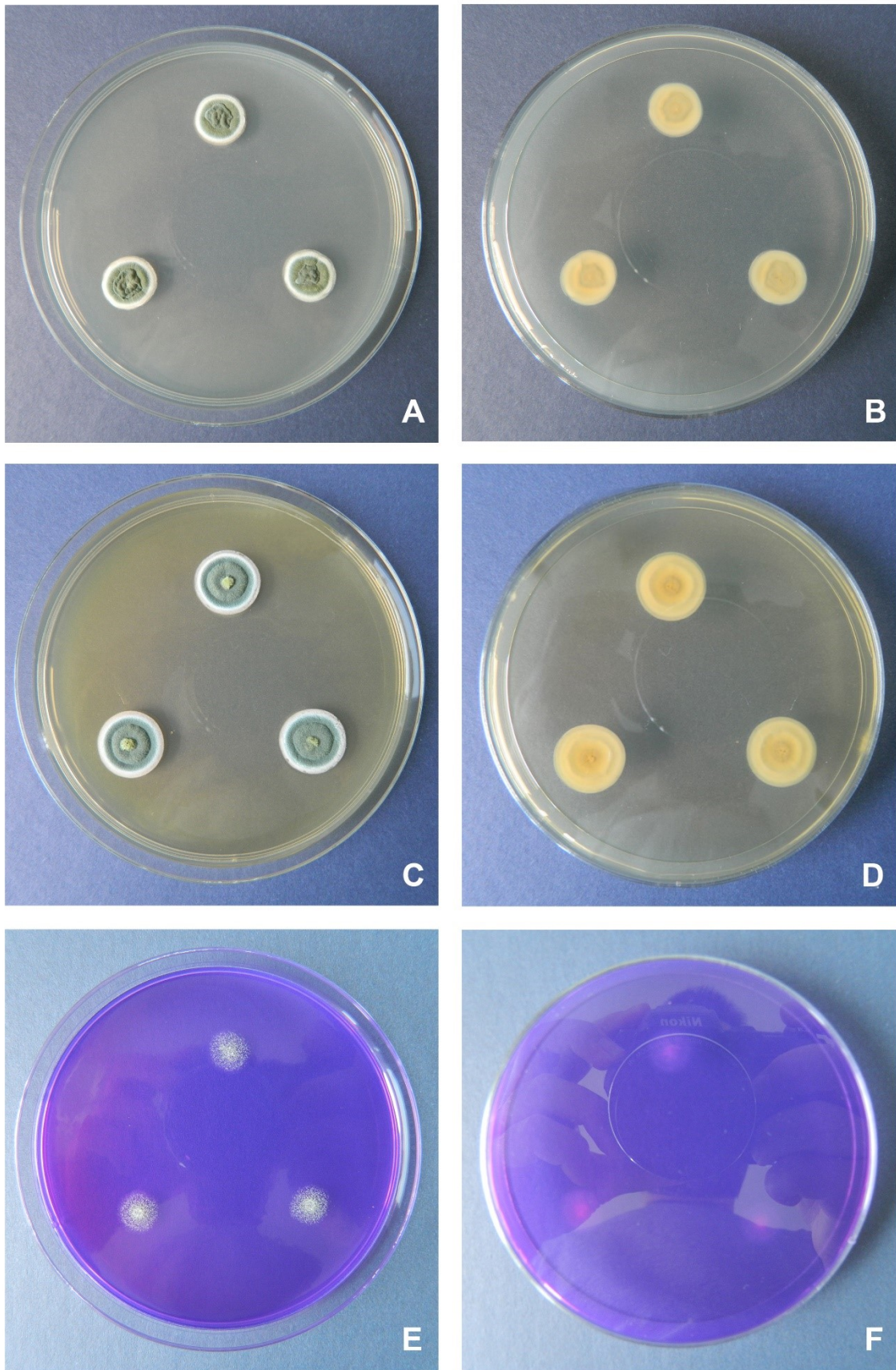
Slika 10. Morfološke odlike izolata osme podgrupe (izolat 21-7), identifikovane kao *P. digitatum*, sa lica (leva kolona) i naličja (desna kolona). **A i B.** CYA, **C i D.** MEA, **E i F.** CREA.



Slika 11. Morfološke odlike izolata devete podrgrupe (izolat SZ-20-6), identifikovane kao *P. olsonii*, sa lica (leva kolona) i naličja (desna kolona). **A i B.** CYA, **C i D.** MEA, **E i F.** CREA.



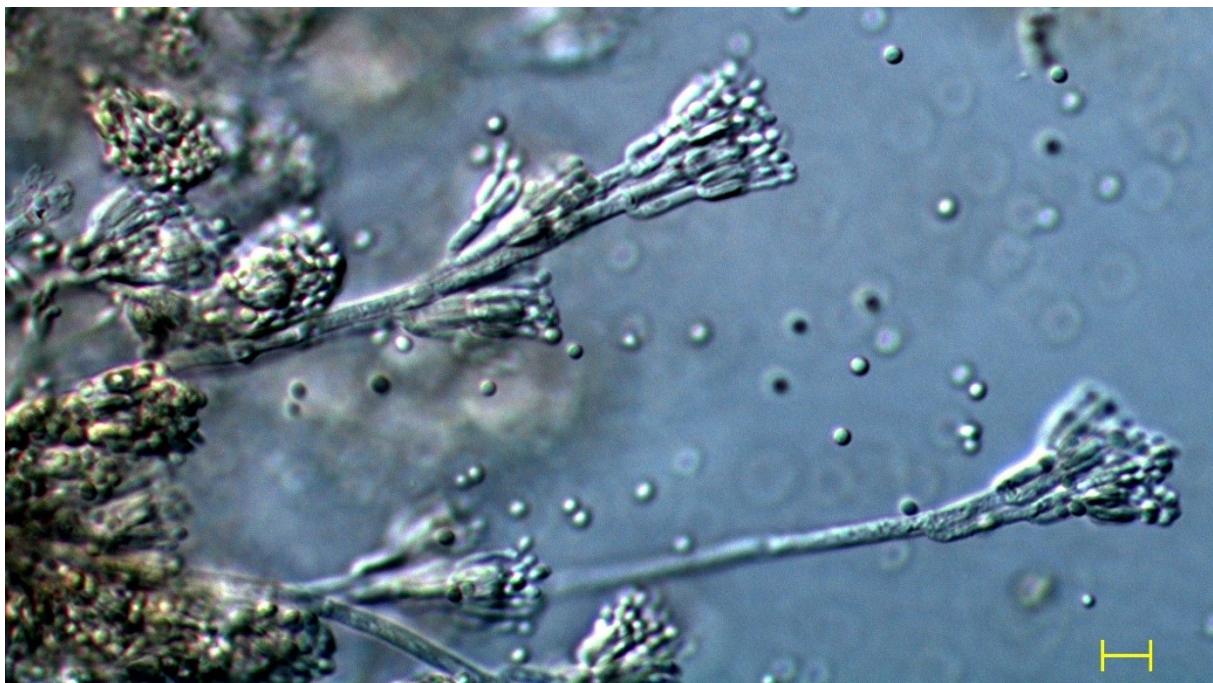
Slika 12. Morfološke odlike izolata desete podgrupe (izolat DnjP/2), identifikovane kao *T. minioluteus*, sa lica (leva kolona) i naličja (desna kolona). **A i B.** CYA, **C i D.** MEA, **E i F.** CREA.



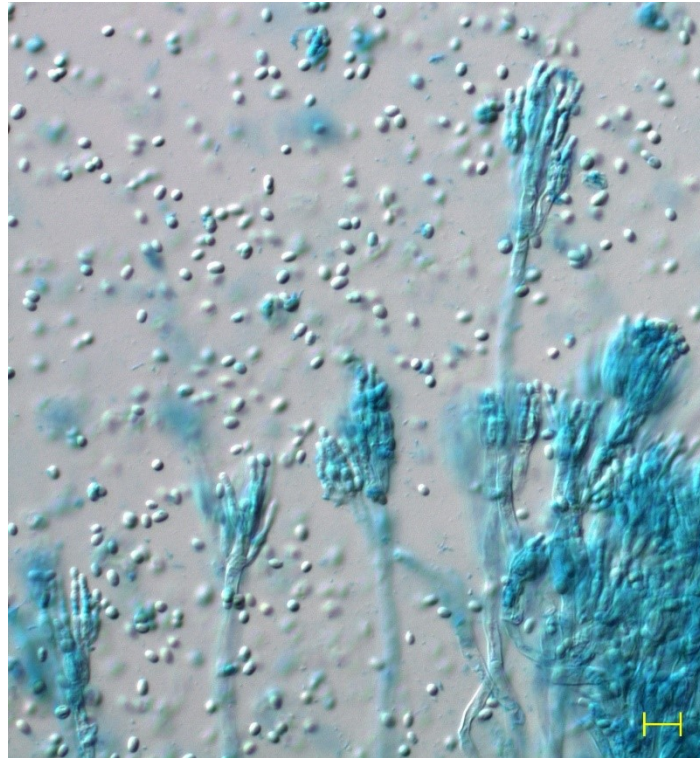
Slika 13. Morfološke odlike izolata jedanaeste podgrupe (izolat KrP/1), identifikovane kao *T. rugulosus*, sa lica (leva kolona) i naličja (desna kolona). **A i B.** CYA, **C i D.** MEA, **E i F.** CREA.



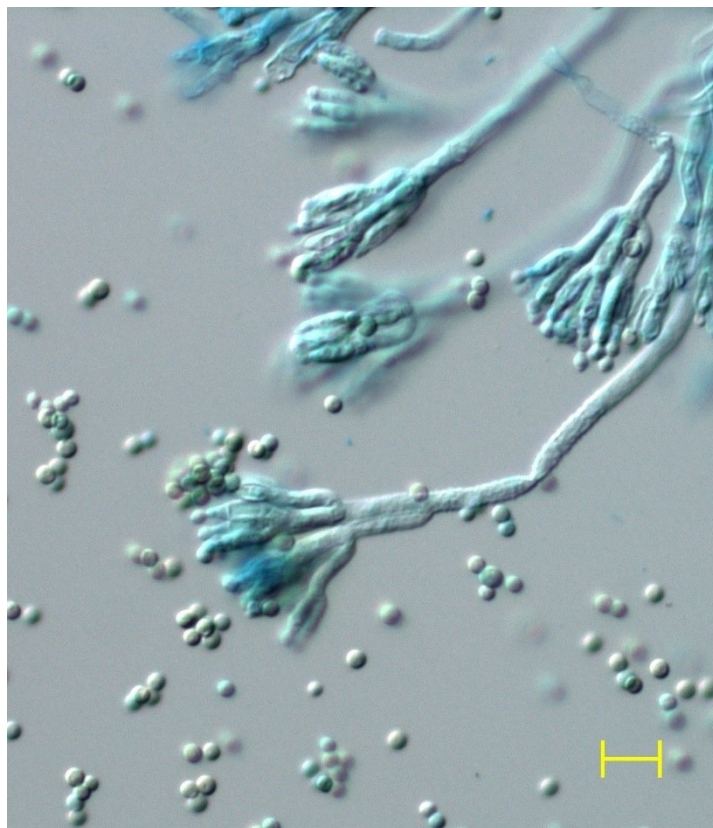
Slika 14. Konidiofor i konidije *Penicillium expansum* (izolat PP/12), bar = 10 μm



Slika 15. Konidiofor i konidije *P. crustosum* (izolat KrP/6), bar = 10 μm



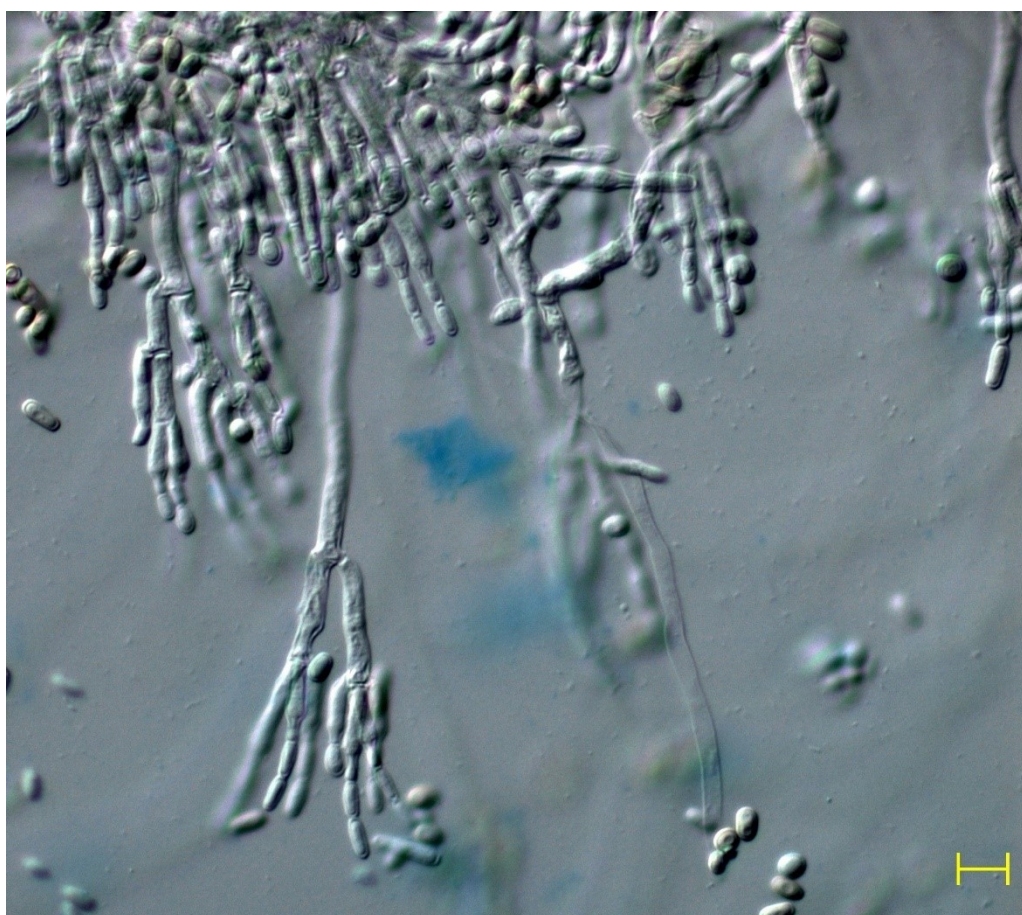
Slika 16. Konidiofori i konidije *P. italicum* (izolat KrP/4), bar = 10 μ m



Slika 17. Konidiofori i konidije *P. allii* (izolat CLP-2), bar = 10 μ m



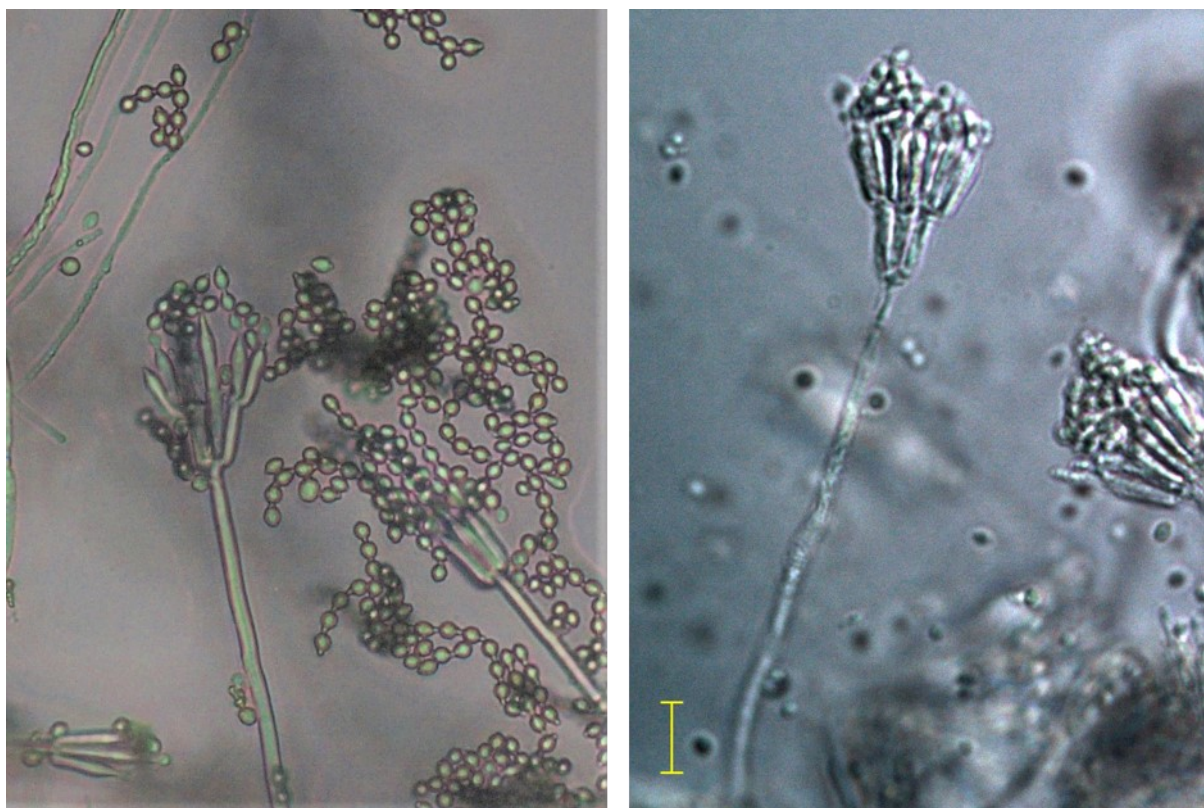
Slika 18. Konidiofor i konidije *P. polonicum* (izolat SZ-18/1), bar = 10 μm



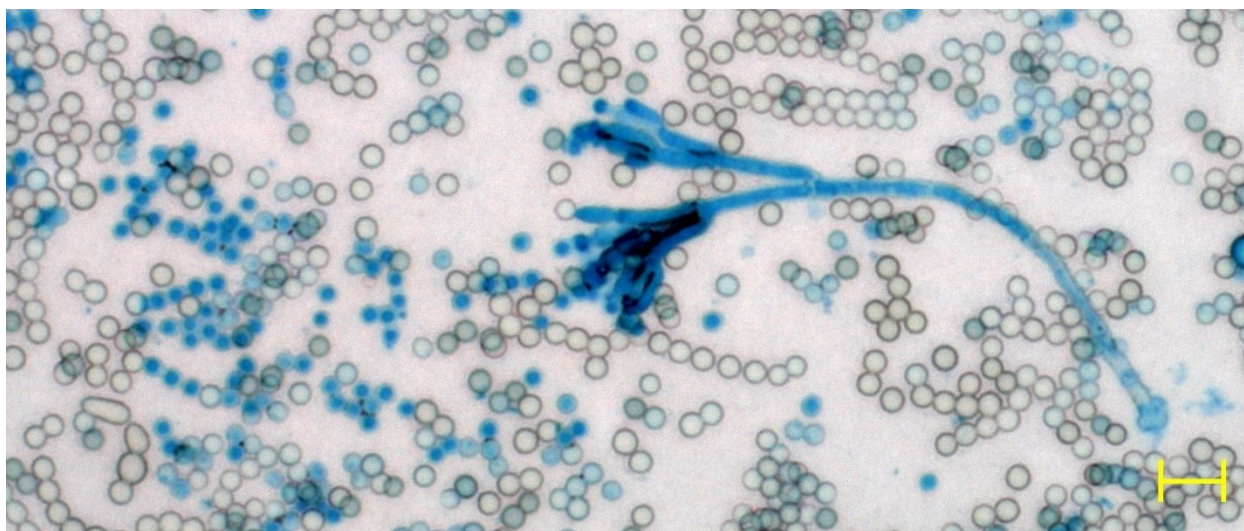
Slika 19. Konidiofor i konidije *P. digitatum* (izolat 21-7), bar = 10 μm



Slika 20. Konidiofor i konidije *P. olsonii* (izolat SZ-20-6), bar = 10 μm



Slika 21. Konidiofor i konidije *T. minioluteus* (izolat DnjP/2), bar = 10 μm



Slika 22. Konidiofor i konidije *T. rugulosus* (izolat KrP/1), bar = 10 μ m

Statistička analiza vrednosti dinamike rasta *Penicillium* i *Talaromyces* spp. na različitim hranljivim podlogama

Statistička analiza porasta vrednosti dinamike rasta na različitim podlogama urađena je nakon konačne identifikacije svih ispitanih izolata do nivoa vrste. U dvofaktorskoj analizi varijanse utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u prosečnim vrednostima rasta izolovanih vrsta *Penicillium* i *Talaromyces* na različitim hranljivim podlogama, kao i da postoje statistički značajne razlike ($p < 0,05$) izolata unutar vrsta. Na MEA podlozi prosečni porast svih vrsta je bio najveći (32,38 mm), potom sledi CYA (30,49 mm) i na kraju CREA (21,09 mm). Najmanji porast na CYA i MEA podlozi zabeležen je kod *T. rugulosus* (15,3 mm, odnosno 17,17 mm), a najviši kod *P. italicum* (40,42 mm, odnosno 45,17 mm, Slika 23). Na CREA, *P. digitatum* nije formirao nikakve kolonije, a *P. olsonii* i *T. minioluteus* su bile sledeće vrste sa najmanjim prosečnim rastom (8,42 i 8,51 mm). Na istoj podlozi, vrsta *P. crustosum* je formirala najveće kolonije (32,75 mm, Slika 23).

Kod izolata koji su identifikovani kao *P. expansum*, uočena je i najveća varijacija u rastu na testiranim podlogama. U naknadnom testu poređenja potvrđena je statistička značajnost razlika ($p < 0,05$) u prosečnim dijametrima kolonija (Slika 24). Najintenzivniji rast na CYA zabeležen je kod izolata sa ploda mandarine MP/5 – 44,13 mm, dok je najmanji bio kod izolata sa korena šargarepe (ŠaP/1, 30,13 mm). Izolat ŠaP/1 je istovremeno najbrže rastao na MEA (43,13 mm), dok se na ovoj podlozi najsporije razvijao izolat sa ploda nektarine (NeP/4, 26,83 mm). U testu naknadnih poređenja, na CREA podlozi više izolata je grupisano u one sa najnižim vrednostima porasta – izolati sa ploda nektarine (NeP/1, NeP/2, NeP/4) i paradajza (ParP/1). Takođe, na istoj podlozi nekoliko izolata je svrstano u grupu sa najintenzivnijim prosečnim rastom, poreklom sa plodova jabuke (JP/1), mandarine (MP/5) i limuna (LiP/2, Slika 24).

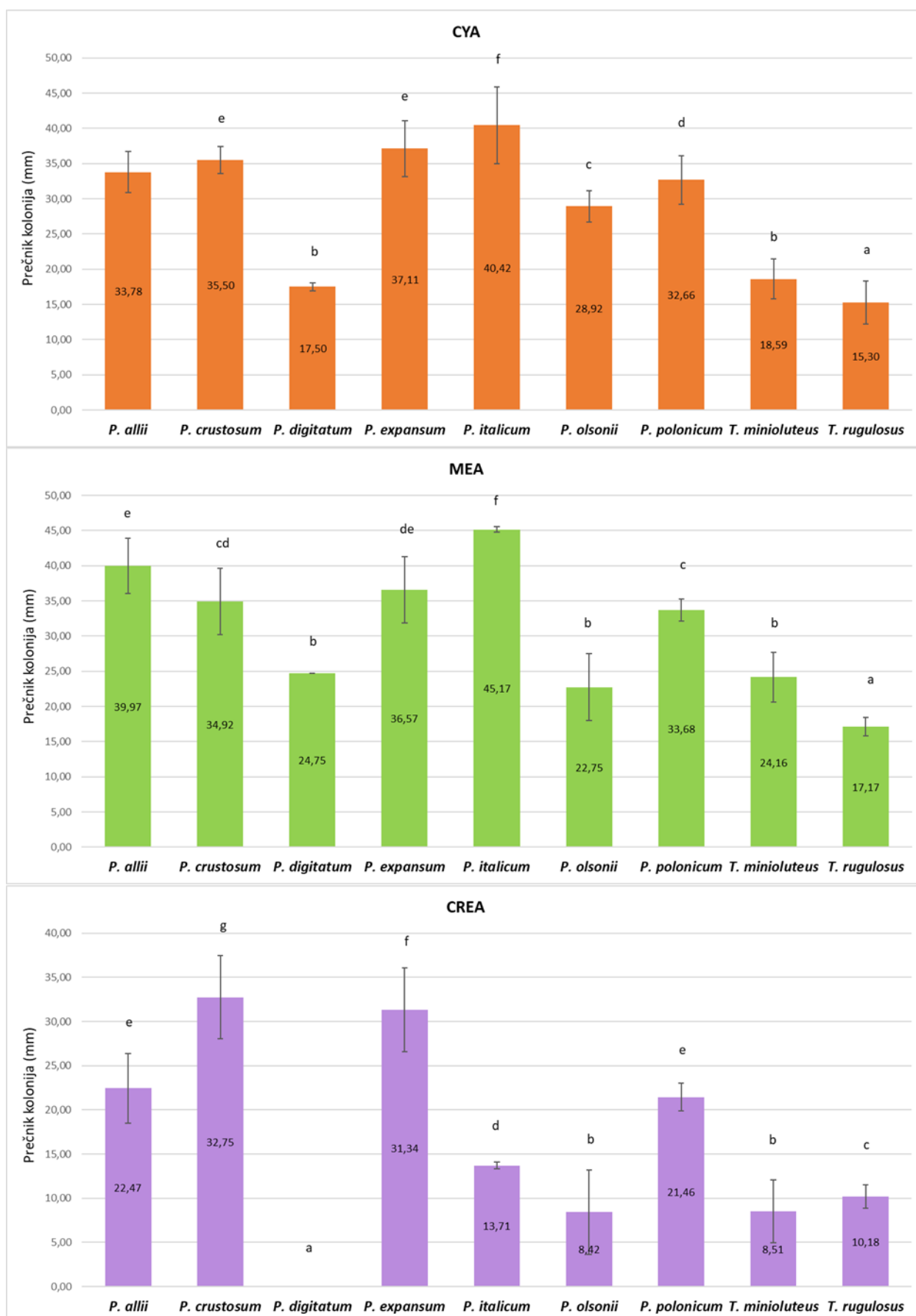
Naknadna poređenja rasta izolata vrste *P. polonicum* pokazala su da postoje statistički značajne razlike unutar svake od testiranih podloga. Na CYA podlozi se izdvojila grupa izolata sa najvišim porastom (SZ-18/2 i SZ-18/3, sa belog luka i LiP/4, sa ploda limuna) (Slika 25). Najmanji porast na ovoj podlozi zabeležen je kod izolata poreklom sa ploda paradajza, ParP/3 (27,92 mm). Izolat SZ-18/3 izdvojio se kao onaj sa najvišim porastom na MEA i CREA podlozi (redom, 38,08 mm i 23,5 mm). Najmanji porast na MEA je uočen kod izolata ParP/3, dok su na CREA podlozi najmanje prosečne vrednosti rasta bile kod izolata SZ-18/2 i SZ-16-2/2 (Slika 25).

Statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u srednjim vrednostima rasta potvrđene su kod izolata *P. allii*, na CYA i CREA podlozi. Na CYA, najveći rast registrovan je kod izolata CLP/2 (36 mm), a najmanji kod SZ-21/1 (32 mm, Slika 26). Na CREA su se izolati podelili u dve grupe – jednu je činio izolat CLP/2, sa najvišim porastom (28,5 mm), a drugu grupu su činili izolati SZ-21/1 i SZ-21/2, sa nižim vrednostima rasta (20,83, odnosno 20,08 mm). Na MEA podlozi nije utvrđena statistički značajna razlika, a prosečni dijametri kolonija kretali su se u rasponu od 36,17 mm (izolat CLP/2) do 43,08 mm (izolat SZ-21/1).

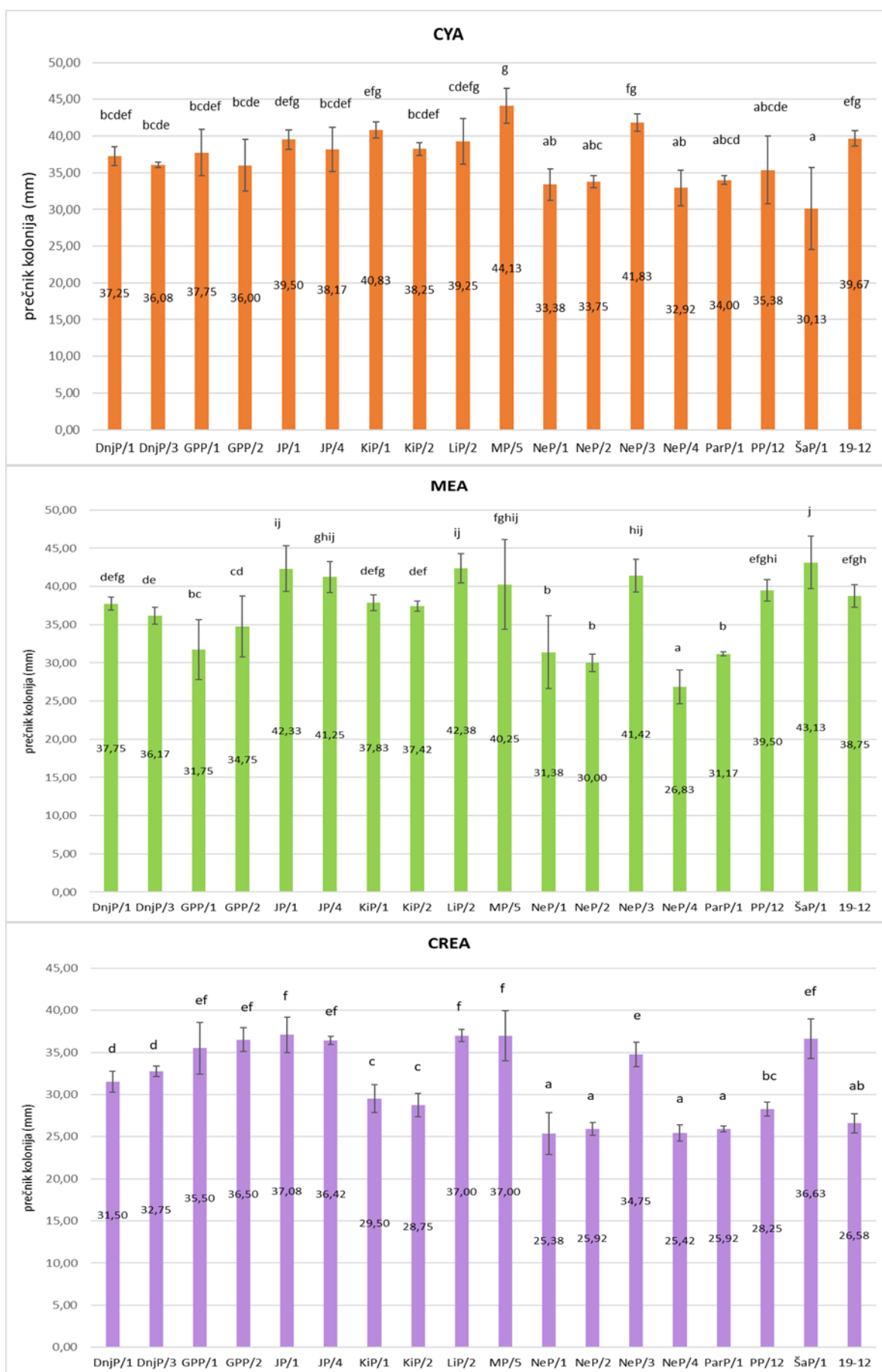
I u slučaju *P. italicum*, statističkim testovima je utvrđeno da između izolata ove vrste postoje značajne razlike ($p < 0,05$) u prosečnim dijametrima kolonija (Slika 27). Izolat SZ-16/2 je bolje rastao na CYA, a slabije na MEA i CREA, dok je obrnuto važno za izolat KrP/9 (Slika 27). Poredeći sve podloge i oba izolata, rast od 46,92 mm na MEA podlozi je bio najveći (izolat KrP/), a 13,42 mm na CREA najmanji (SZ-16/2).

Prosečne vrednosti rasta izolata *T. minioluteus* takođe su upoređene u statističkim testovima kako bi se ispitalo da li postoje razlike između izolata. Utvrđena je statistička značajnost ($p < 0,05$) između izolata ove vrste, na svakoj od inokulisanih podloga (Slika 28). Međutim, stepen variranja je bio manji u odnosu na na prethodno ispitane vrste. Na sve tri podloge, posebno se izdvojio izolat KrP/7 koji je imao najviše srednje vrednosti rasta (26,3 mm na CYA, 27,92 mm na MEA i 17,67 mm na CREA). Međutim, na MEA i CREA, svi ostali izolati su po svojim prosečnim dijametrima kolonija bili svrstani u drugu, preostalu grupu. Jedino je na CYA podlozi došlo do razdvajanja izolata u tri grupe prema vrednostima rasta – jednu koju je činio već pomenuti KrP/7 sa najvećim rastom kolonija, drugu, koju je predstavljao izolat PP/14 sa najmanjim prosečnim rastom (15,33 mm), i treću, koju su činili svi ostali izolati (Slika 28).

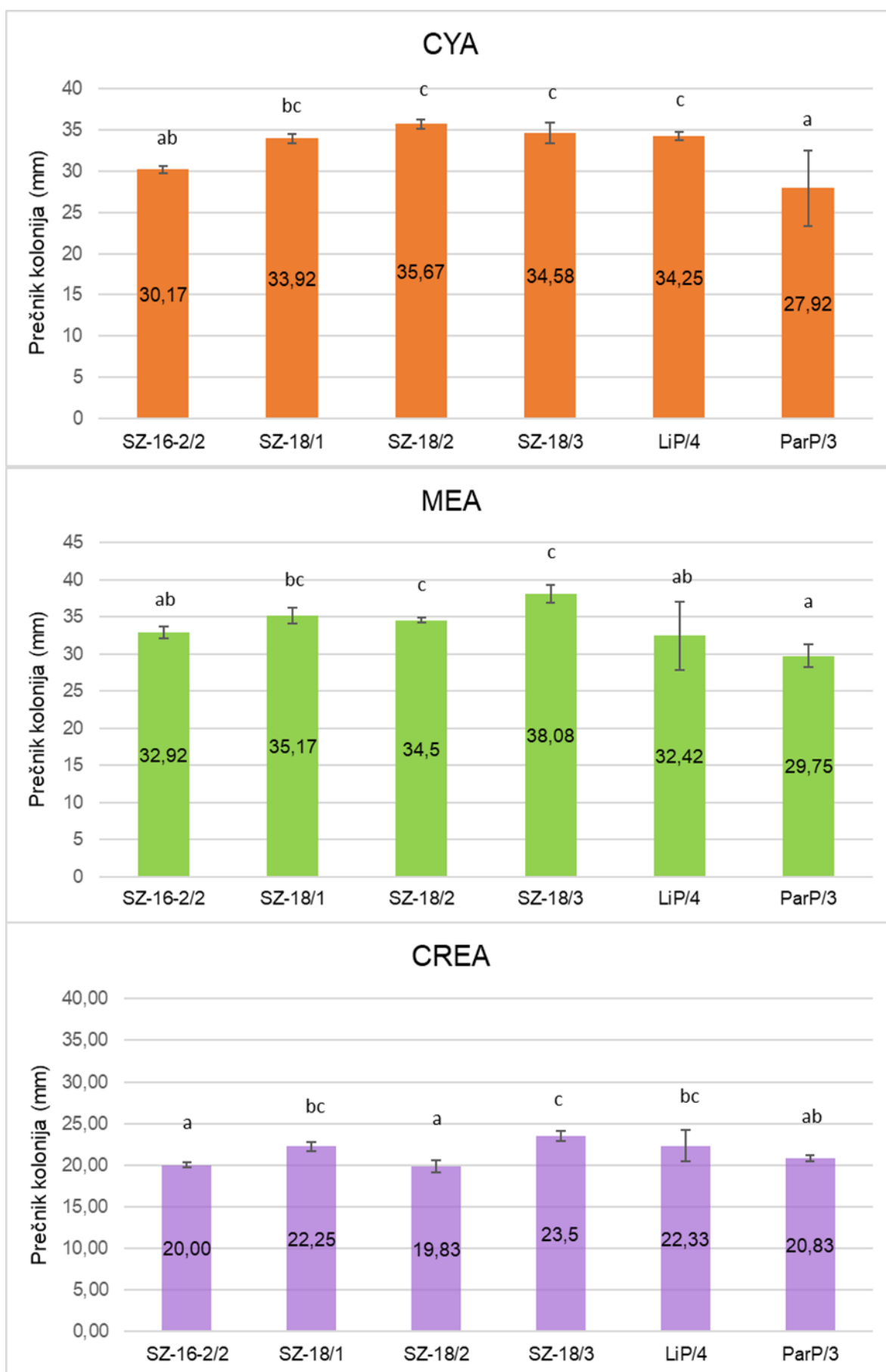
Slično je utvrđeno i za vrstu *T. rugulosus* (Slika 29). Izolat KrP/1 (sa ploda kruške) je imao niže vrednosti rasta na tri podloge, dok su prosečni dijametri kolonija bili viši kod izolata poreklom sa limuna, LiP/1. Najintenzivniji rast, posmatrajući sve tri podloge i oba izolata, imao je izolat LiP/1 na MEA (19,75 mm), a najslabiji je imao izolat KrP/1 na CREA podlozi (9,1 mm, Slika 29).



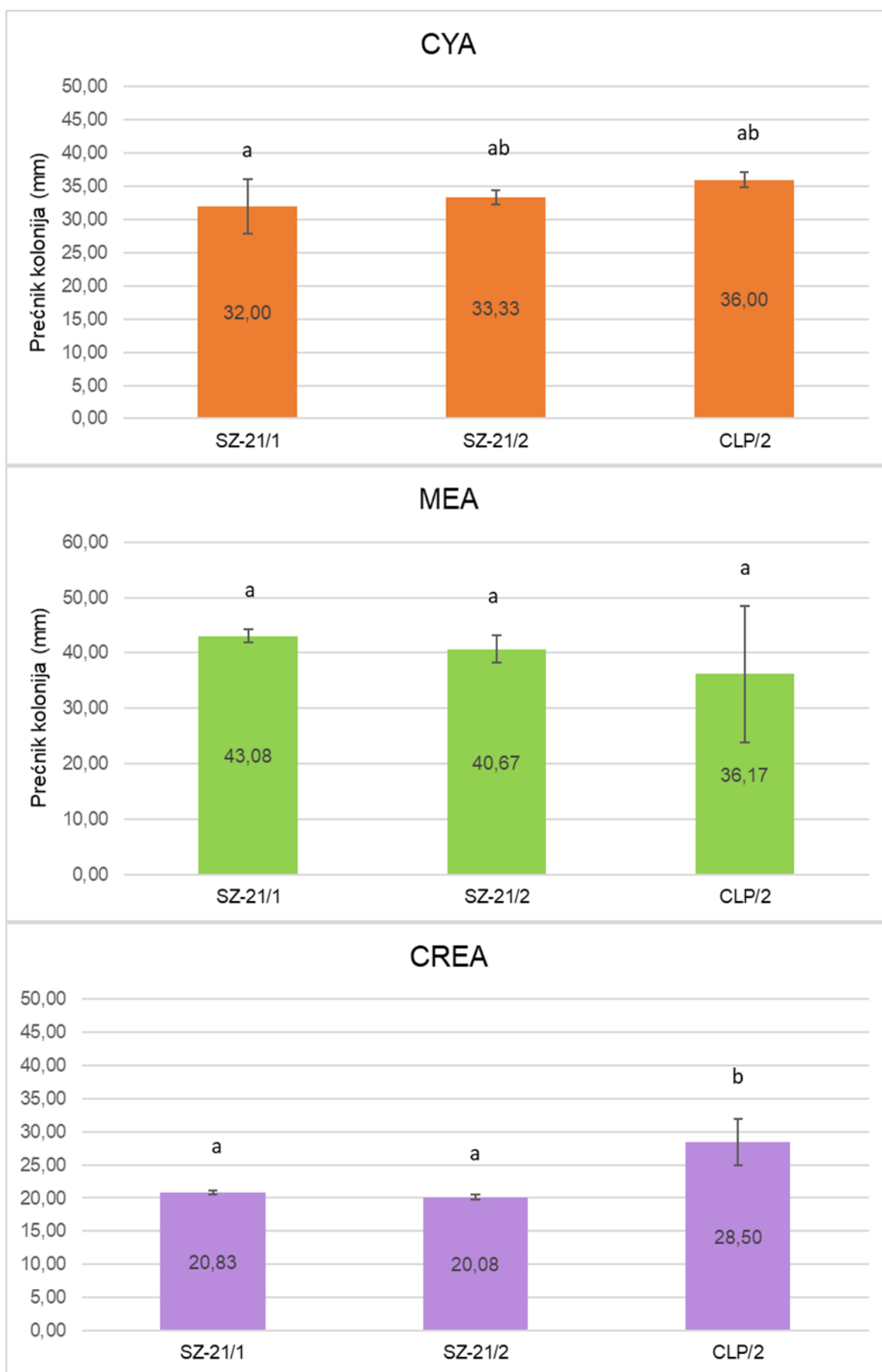
Slika 23. Srednje vrednosti rasta svih izolovanih vrsta *Penicillium* i *Talaromyces* na testiranim podlogama nakon 7 dana inkubacije na 25°C. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$)



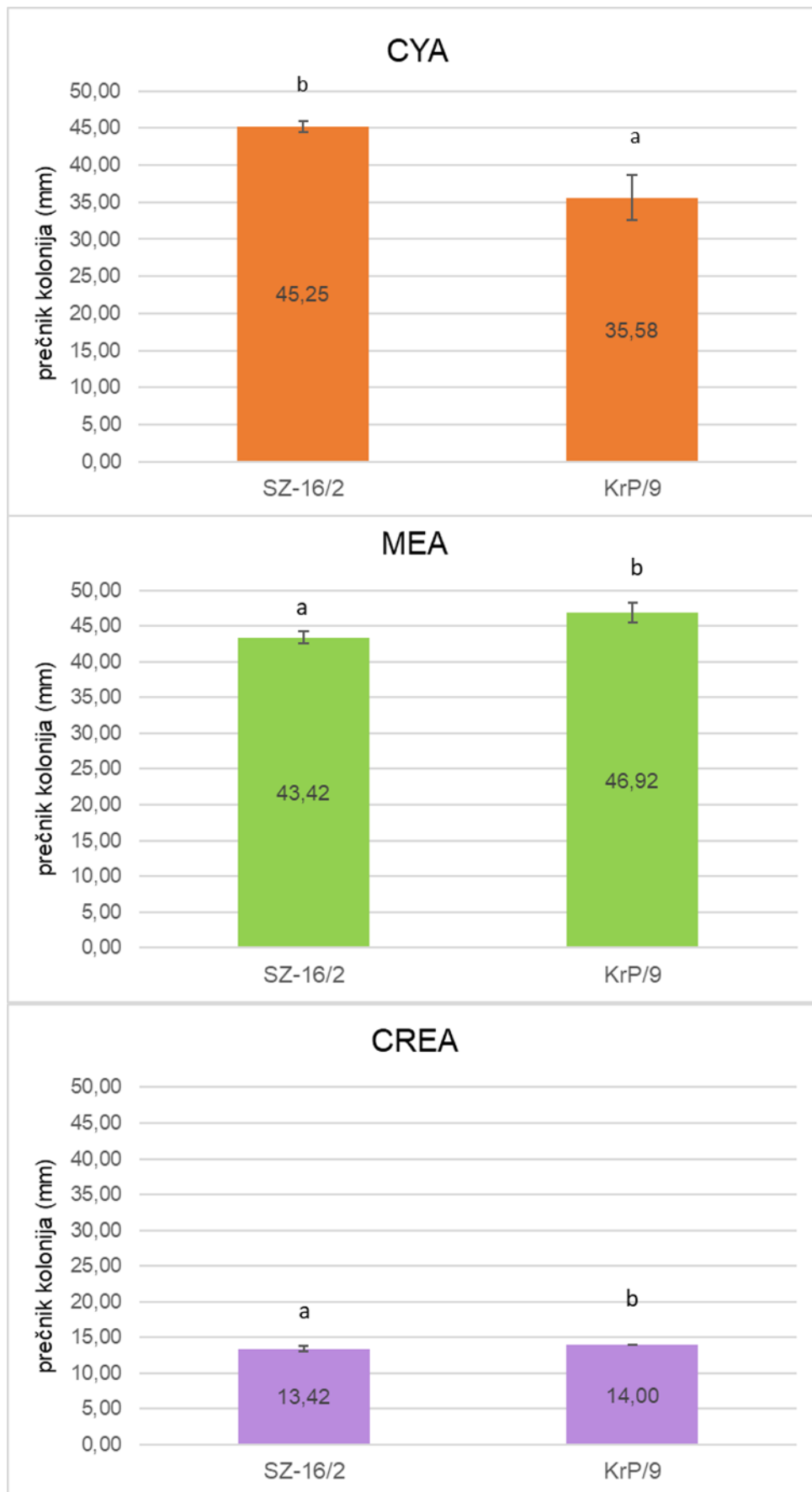
Slika 24. Srednje vrednosti rasta izolata *P. expansum* na testiranim podlogama nakon 7 dana inkubacije na 25°C. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$).



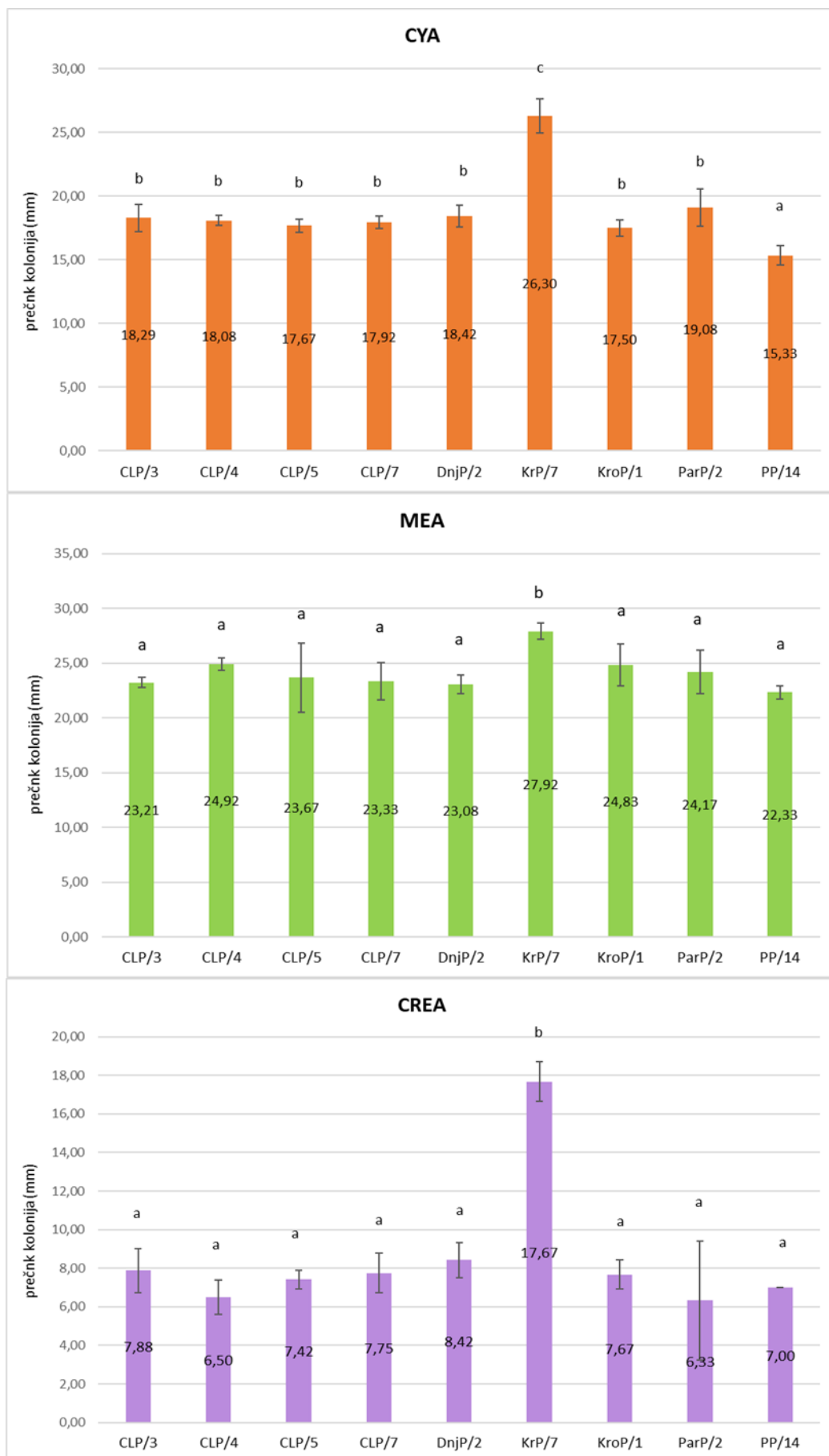
Slika 25. Srednje vrednosti rasta izolata *P. polonicum* na testiranih podlogama nakon 7 dana inkubacije na 25°C. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$).



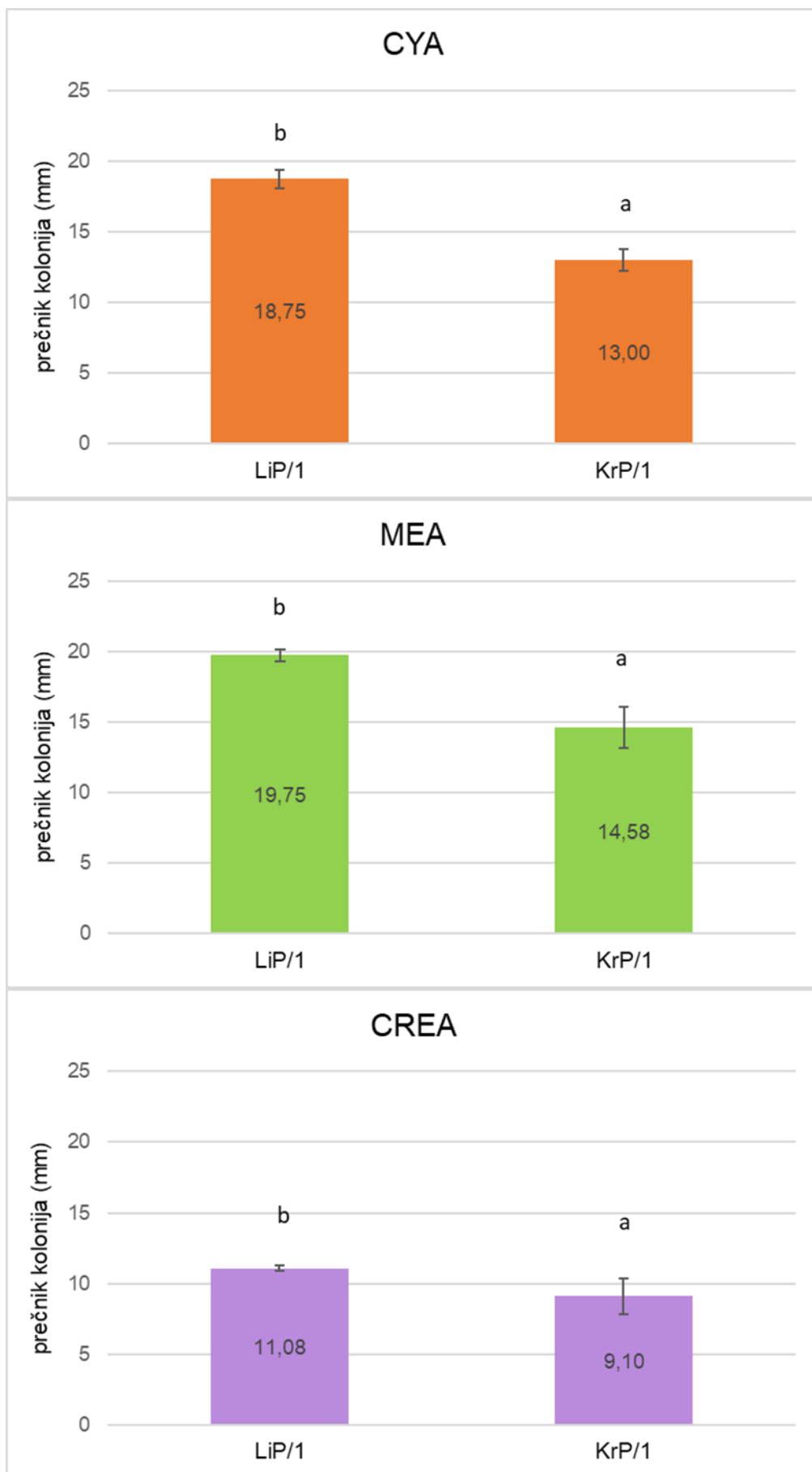
Slika 26. Srednje vrednosti rasta izolata *P. allii* na testiranim podlogama nakon 7 dana inkubacije na 25°C. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$).



Slika 27. Srednje vrednosti rasta izolata *P. italicum* na testiranim podlogama nakon 7 dana inkubacije na 25°C. Vrednosti označene različitim slovom su statistički značajno različite prema Studentovom t-testu ($p < 0,05$).



Slika 28. Srednje vrednosti rasta izolata *T. minioluteus* na testiranim podlogama nakon 7 dana inkubacije na 25°C. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$).



Slika 29. Srednje vrednosti rasta izolata *T. rugulosus* na testiranim podlogama nakon 7 dana inkubacije na 25°C. Vrednosti označene različitim slovom su statistički značajno različite prema Studentovom t-testu ($p < 0,05$).

4.3. Uticaj temperature na porast izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp.

U cilju ispitivanja uticaja temperature na porast *Penicillium/Talaromyces* spp. sa uskladištenog voća i povrća izolati su inkubirani na CYA podlozi na 3 temperature – 5, 25 i 37°C. Na 5°C uočen je slab ili umereno slab porast kod većine vrsta, dok je na 25°C prosečan porast svih vrsta bio najveći. Na 37°C nijedan od testiranih izolata nije ispoljio porast. Utvrđene su statistički značajne ($p < 0,05$) interspecijske i intraspecijske razlike u prečnicima kolonija na temperaturama 5 i 25°C.

Interspecijske razlike u porastu vrsta *Penicillium* i *Talaromyces* na 5 i 25°C

Na temperaturi od 5°C, samo izolati *P. digitatum* i *T. minioluteus* nisu ispoljili porast. Najveće prosečne vrednosti kolonija zabeležene su kod izolata *P. crustosum* (15,67 mm) i *P. expansum* (14,75 mm), dok su najmanji porast imali izolati vrste *P. olsonii* (2,50 mm, Slika 30). Fenotipski izgled svih kultura odgajenih na 5°C je bio vrlo sličan: kolonije slabog do slabo umerenog rasta, blago izdignute, flokozne (eng. *floccose*) teksture, sa belom micelijom, bez sporulacije i eksudata.

Na temperaturi od 25°C izolati svih identifikovanih vrsta su formirali kolonije. Najintenzivniji porast zabeležen je kod izolata *P. italicum* (40,42 mm), dok su najmanji prosečan porast ispoljili izolati *T. rugulosus* (15,3 mm, Slika 31). Izgled formiranih kolonija svake od vrsta odgovarao je fenotipskom izgledu kultura u ogledu ispitivanja makromorfoloških odlika na CYA podlozi.

Intraspecijske razlike u porastu izolata *Penicillium* i *Talaromyces* na 5 i 25°C

Porast izolata P. expansum na 5°C. Porast 18 izolata vrste *P. expansum* poreklom sa različitih domaćina na 5°C je varirao. Izolati sa ploda kruške (19-12) i ploda pomorandže (PP/12) imali su najmanji porast (7,00 odnosno 7,33 mm prosečni dijametar kolonija) za razliku od izolata sa plodova jabuke (JP/4, JP/1) i limuna (LiP/2), imali su najveći prosečni porast kolonija nakon 7 dana inkubacije (redom 22,25; 22,13; i 22,17 mm, Slika 32).

Porast izolata P. polonicum na 5°C. Varijacija ove odlike kultivacije utvrđena je i kod pet izolata *P. polonicum*. Izolat poreklom sa belog luka, SZ-16-2/2, je imao najmanji prosečni porast (5,42 mm), za razliku od izolata sa ploda limuna (LiP/4) koji je manifestovao najintenzivniji porast (17,42 mm, Slika 33).

Porast izolata P. italicum na 5°C. Na ovoj temperaturi ispitan je porast izolata *P. italicum*, sa lukovica belog luka (SZ-16/2) i ploda kruške (KrP/9). Izolat SZ-16/2 je ispoljio porast na ovoj temperaturi, dok se u slučaju izolata KrP/9 nisu razvile kolonije (Slika 34).

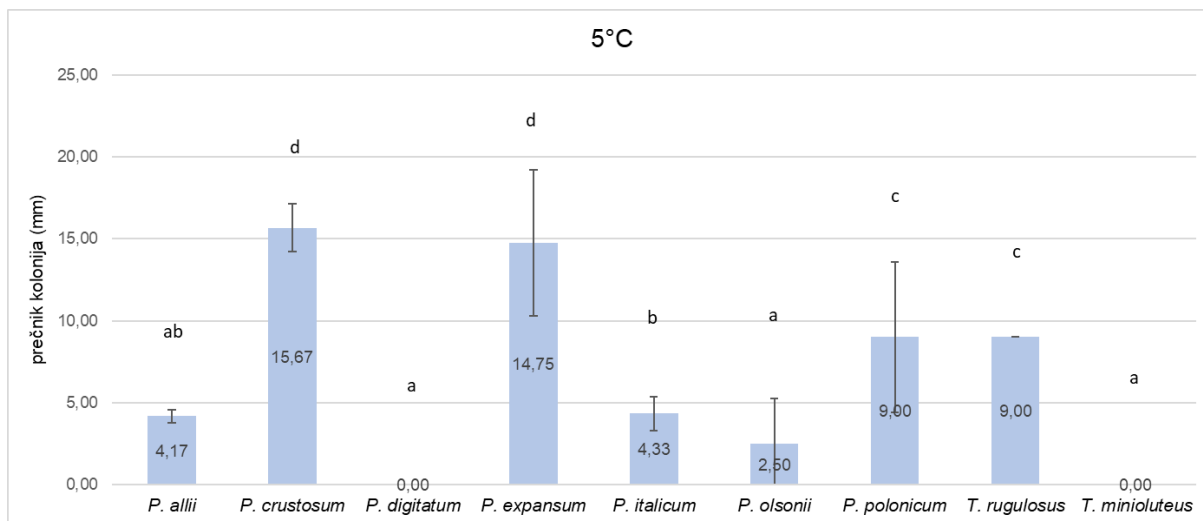
Porast izolata P. allii na 5°C. Razlika u porastu izolata na navedenoj temperaturi inkubacije postojala je i u slučaju *P. allii*. Izolat poreklom sa crnog luka (CLP/2) je imao prosečnu vrednost porasta od 4,17 mm, dok izolati sa belog luka (SZ-21/1 i SZ-21/2) nisu formirali kolonije na ovoj temperaturi (Slika 34).

Porast izolata T. rugulosus na 5°C. Izolat *T. rugulosus* sa ploda kruške (KrP/1) je formirao kolonije prosečnog dijametra od 9 mm, dok izolat poreklom sa ploda limuna (LiP/1) nije rastao na temperaturi od 5°C (Slika 34).

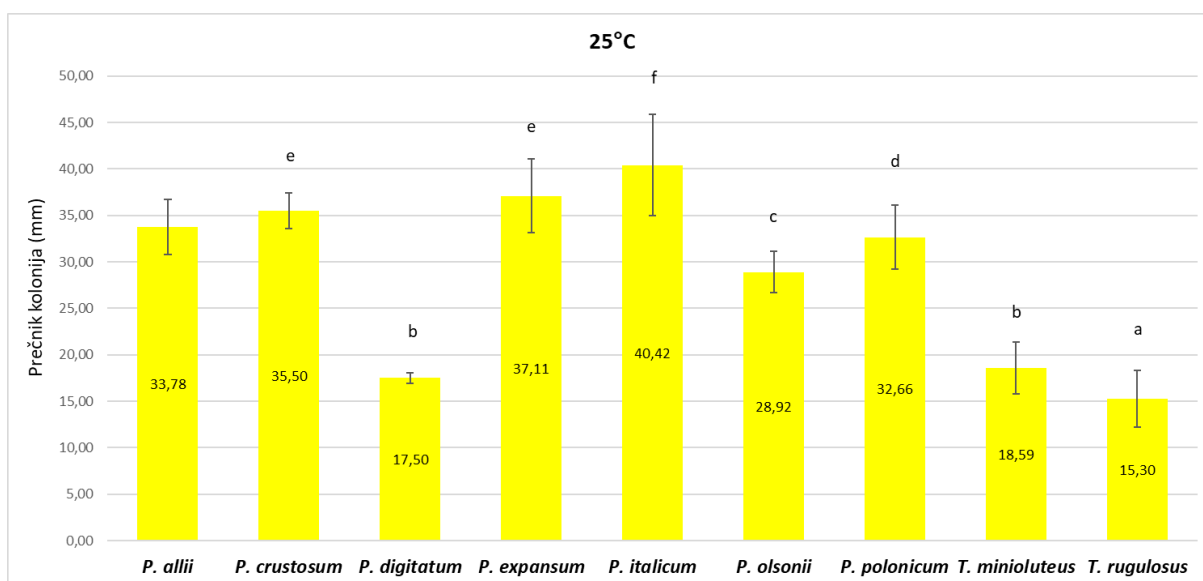
Porast izolata *P. crustosum* na 5°C. Izolati *P. crustosum* poreklom sa plodova kruške (KrP/5 i KrP/6) obrazovali su kolonije na ovoj temperaturi inkubacije. Prosečne vrednosti porasta su se vrlo malo razlikovale između izolata. Izolat KrP/6 je imao srednju vrednost prečnika kolonija od 16,02 mm, dok je kod izolata KrP/5 dijametar iznosio 15,32 mm (Slika 34).

Porast izolata *P. olsonii* na 5°C. Kod izolata *P. olsonii* poreklom sa plodova paradajza (SZ-20-6 i SZ-20-7) nije bilo razlika u prosečnim vrednosti njihovih porasta (Slika 34).

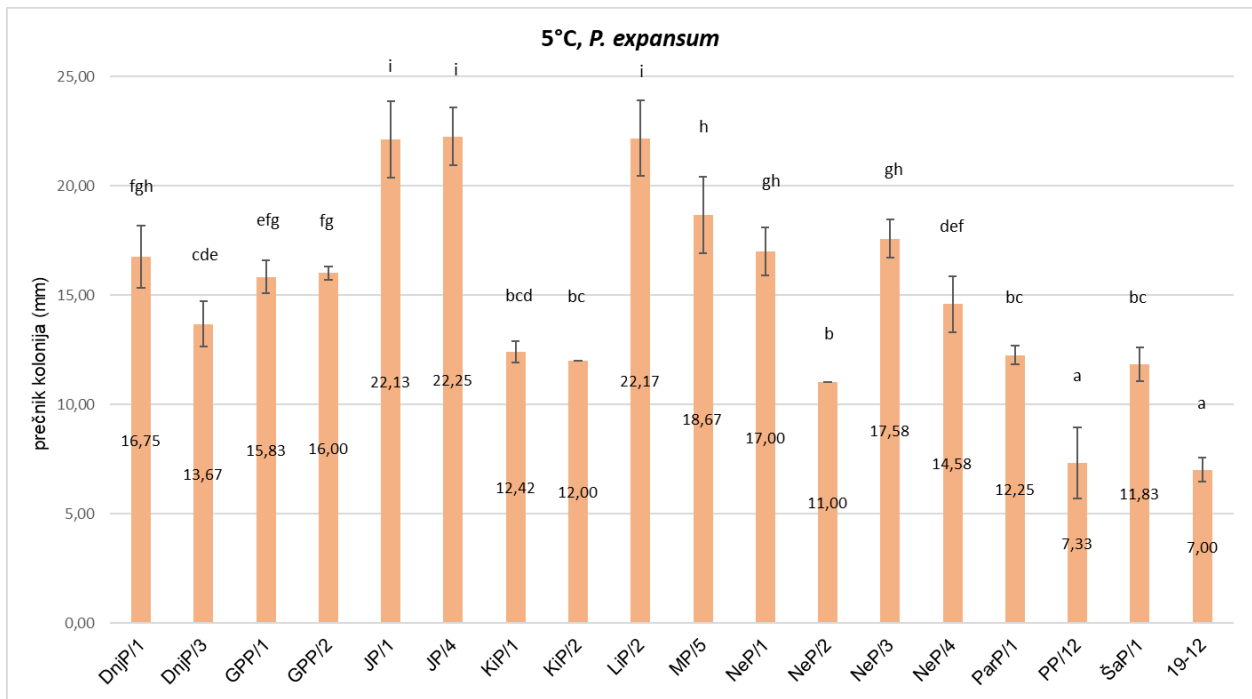
Porast izolata *Penicillium/Talaromyces* na 25°C. Statistički značajne razlike u porastu izolata *Penicillium* i *Talaromyces* na 25°C utvrđene su i kod izolata koji su pripadali istim vrstama. Analiza je prikazana u prethodnom poglavlju koje se odnosi na porast i makromorfološki izgled dobijenih kultura na CYA podlozi.



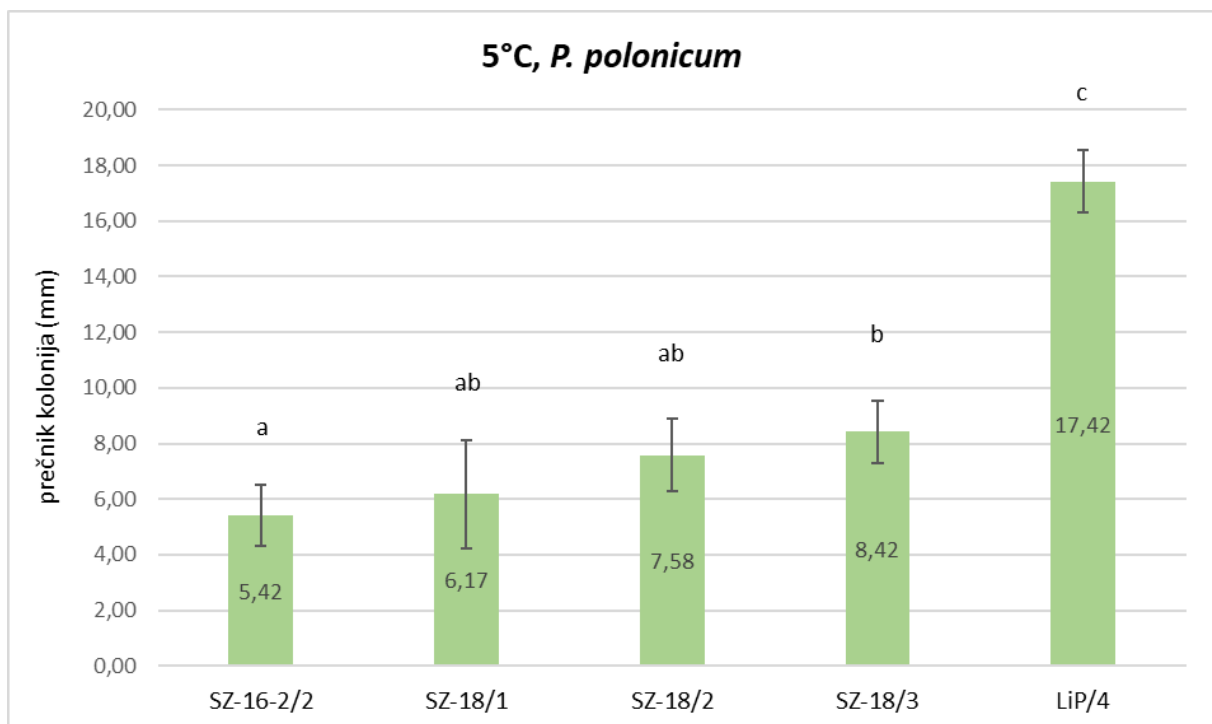
Slika 30. Srednje vrednosti rasta svih izolovanih vrsta *Penicillium* i *Talaromyces* na CYA podlozi nakon 7 dana inkubacije na 5°C. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$)



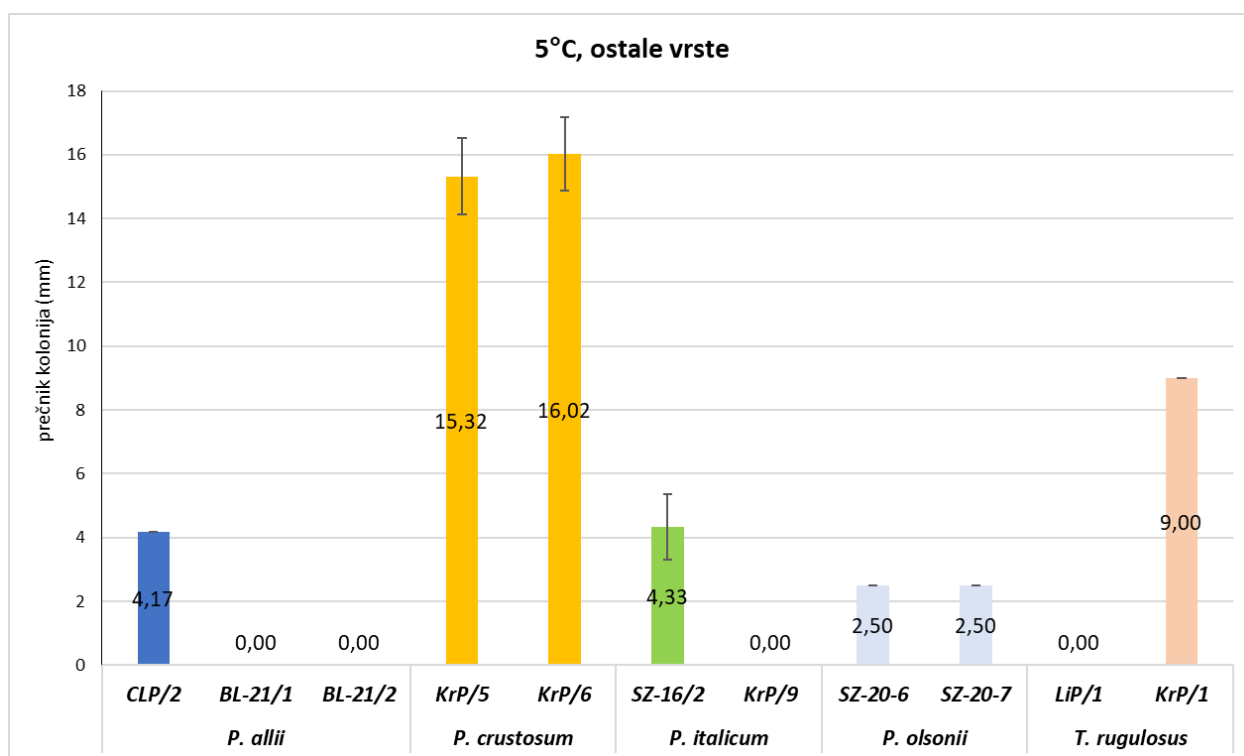
Slika 31. Srednje vrednosti rasta svih izolovanih vrsta *Penicillium* i *Talaromyces* na CYA podlozi nakon 7 dana inkubacije na 25°C. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$)



Slika 32. Srednje vrednosti rasta izolata *P. expansum* na CYA podlozi nakon 7 dana inkubacije na 5°C. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$)



Slika 33. Srednje vrednosti rasta izolata *P. polonicum* na CYA podlozi nakon 7 dana inkubacije na 5°C. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$)



Slika 34. Srednje vrednosti rasta izolata *P. allii*, *P. crustosum*, *P. italicum*, *P. olsonii* i *T. rugulosus*, na CYA podlozi nakon 7 dana inkubacije na 5°C.

4.4. Molekularna identifikacija izolata

Konvencionalni PCR je primenjen za uspešnu amplifikaciju ITS, *BenA*, *CaM* i *RPB2* genskih regiona odabranih izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp., poreklom sa uskladištenih plodova voća i povrća. Dobijeni PCR produkti su sekvencirani i te sekvence su iskorišćene za identifikaciju i karakterizaciju navedenih izolata gljiva. Prikaz sekvenciranih izolata iz ove studije, kao i onih koje su upotrebljene za proveru, poređenje i kasniju konstrukciju filogenetskih stabala prikazan je u tabeli br. 5. Za sve izolate sekvencirani su geni za ITS i *BenA*. Izolati vrste *T. minioluteus* poreklom sa više različitih domaćina (crni luk, dunja, paradajz, pomorandža i krompir) su sekvencirani na sva 4 genska lokusa, zbog toga što ova vrsta do sada nije bila dovoljno poznata kao značajan patogen plodova voća i povrća. Takođe, izolati *Penicillium* i *Talaromyces* dobijeni sa plodova kruške i lukovica belog luka su takođe sekvencirani na sva četiri lokusa. Naime, obe biljne kulture važne su u agrarnoj proizvodnji naše zemlje i do ovog istraživanja nije bilo nikakvih molekularnih podataka o vrstama dva navedena roda fitopatogenih gljiva na njima. Korišćenjem BLASTn algoritma izvršeno je poređenje naših, sredenih, konsenzus sekvenci sa sekvencama deponovanim u GenBank bazi. Molekularna identifikacija potvrdila je da izolati pripadaju onim taksonima koji su bili preliminarno identifikovani u morfo-fiziološkim ogledima: podgrupa 1 - *P. expansum*; podgrupa 4 - *P. crustosum*; podgrupa 5 - *P. italicum*, podgrupa 6 - *P. allii*; podgrupa 7 - *P. polonicum*; podgrupa 8 - *P. digitatum*; podgrupa 9 - *P. olsonii*; podgrupa 10 - *T. minioluteus*; podgrupa 11 - *T. rugulosus*. Izolati koji su prema svojim morfo-fiziološkim odlikama bili svrstani u podgrupe 2 i 3, i tada identifikovani do nivoa roda (*Penicillium* sp.), na osnovu molekularnih analiza utvrđeno je da pripadaju vrsti *P. expansum*.

Posmatrano po sekvenciranim regionima, međusobna nukleotidna identičnost izolata iz ovog istraživanja u slučaju ITS-a (Tabela 6) varirala je u opsegu od 95,5% do 100 %, u zavisnosti od morfološke podgrupe. Istovremeno, poklapanje nukleotidnih sekvenci sa sekvencama GenBank baze bilo je u rasponu 96,3-100% za sve naše izolate. Kada je u pitanju *BenA*, analiza homologije naših nukleotidnih sekvenci dala je opseg 95-100%, dok je istovetnost sa drugim sekvencama iz

GenBank baze bila u rasponu 97-100% (Tabela 7). U slučaju *CaM* gena, međusobno poklapanje naših sekvenci kretalo se od 98,45% do 100%, a u sličnom rasponu je bila i nukleotidna identičnost sa drugim sekvencama deponovanim u GenBank bazi (98,48-100%, Tabela 8). Analiza nukleotidne homologije naših *RPB2* sekvenci dala je opseg 99,35-100% za sve sekvencirane izolate, dok je pri poređenju sa drugim GenBank sekvencama taj raspon iznosio 97,37-100%, u zavisnosti od konkretnog izolata i/ili morfološke podgrupe (Tabela 9).

4.5. Filogenetske analize

Filogenetski odnosi izolata *Penicillium* i *Talaromyces* iz ovog istraživanja ispitani su za svaki od navedenih rodova. Sekvence svih izolata oba roda su uključene u konstrukciju pojedinačnih filogenetskih stabala za ITS i *BenA* gene, a iste sekvence su iskorišćene za kreiranje i multilokusnih stabala ITS i *BenA* (Tabela 4). Detaljna filogenetska karakterizacija sa sekvencama sva 4 lokusa urađena je za izolate *T. minioluteus*, kao i za odabrane izolate *Penicillium* i *Talaromyces* spp. poreklom sa plodova kruške (Tabela 4). Svi izolati iz ovog istraživanja pozicionirali su se sa izolatima odgovarajućih vrsta u svim filogenetskim analizama, osim u prvom ispitivanju.

Prva filogenetska analiza urađena je za ITS marker, za vrste roda *Penicillium*. Uređeni set za analizu se sastojao od 70 sekvenci naših i reprezentativnih izolata, čija je zajednička dužina iznosila 454 nukleotida (nt). Kao najbolji model nukleotidne susptitucije MEGA program je odredio Tamura-3-parametarski model sa Gamma distribucijom (T92+G). Skoro svi izolati iz ove studije grupisali su se sa izolatima onih vrsta koje su utvrđene u ogledima morfološke i molekularne identifikacije. Jedine izuzetke predstavljali su izolat *P. expansum* sa ploda paradajza (ParP/1), koji je ML analiza rasporedila u grupu sa izolatima *P. olsonii*, i ParP/3 (*P. polonicum*) koji se grupisao u klaster sa izolatima *P. expansum* (Slika 35). Na finalnom stablu, ne računajući outgroup sekvencu, izolati su se rasporedili u dva glavna klastera - jedan koji je sadržao vrste *P. olsonii*, i drugi klaster sa svim ostalim izolatima.

Tabela 6. Molekularna identifikacija izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp. na osnovu ITS regiona. Podebljani, podvučeni i sivo obojeni tekst predstavlja rezultat konačne identifikacije.

Morfološka podgrupa: Izolati	Najveća zajednička dužina sekvenci (nt) iz ove studije	Međusobna nukleotidna identičnost naših sekvenci (%/broj nt razlike)	Identičnost sa drugim GenBank sekvencama (%)	Pristupni brojevi drugih GenBank sekvenci	BLAST rezultat(i)/ Konačna identifikacija
6: CLP/2, BL-21/1, BL-21/2)	862	100 (0 nt)	100	OM349642	<i>Penicillium</i> sp./ <u>P. allii</u>
4: KrP/2, KrP/5, KrP/6	865	100 (0 nt)	100	GQ458026, MZ962708	<i>P. commune</i> , <i>Penicillium</i> sp./ <u>P. crustosum</u>
1, 2, 3: DnjP/1, DnjP/3, GPP/1, GPP/2, JP/1, JP/4, KiP/1, KiP/2, LiP/2, MP/4, MP/5, NeP/1, NeP/2, NeP/3, NeP/4, ParP/1, PP/12, ŠaP/1, 19-10, 19-11, 19-12, 19-12, 19-13, 19-14	884	95,5 (38 nt)	96,3-100	DQ339547, DQ339548, DQ339552, DQ339556, DQ339558, DQ339562	<i>P. expansum</i> / <u>P. expansum</u>
5: SZ-16-2, KrP/3, KrP/4, KrP/9	917	100 (0 nt)	99,7	DQ339547, DQ339548, DQ339552, DQ339556, DQ339558, DQ339562	<i>P. italicum</i> / <u>P. italicum</u>
9: SZ-20-6	551	-	99,8	MT309664, MN340986	<i>P. coffeae</i> , <i>P. olsonii</i> / <u>P. olsonii</u>
7: SZ-18/1, SZ-18/2, SZ-18/3, SZ-16-2/2, LiP/3, LiP/4, ParP/3	899	99,4-100	99,68-100	OM349642, OQ344775	<i>Penicillium</i> sp., <i>P. polonicum</i> / <u>P. polonicum</u>
10: CLP/3, CLP/4, CLP/5, CLP/7, DnjP/2, KrP/7, KroP/1, ParP/2, PP/14	929	99,9-100	99,2	MH861709	<i>T. minioluteus</i> / <u>T. minioluteus</u>
11: KrP/1, KrP/8, LiP/1	920	99,8-100	99,8-100	CP055901, MH858378	<i>T. rugulosus</i> / <u>T. rugulosus</u>

Tabela 7. Molekularna identifikacija izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp. na osnovu *BenA*.
Podebljani, podvučeni i sivo obojeni tekst predstavlja rezultat konačne identifikacije.

Morfološka podgrupa: Izolati	Najveća zajednička dužina sekvenci (nt) iz ove studije	Međusobna nukleotidna identičnost naših sekvenci (%/broj nt razlike)	Identičnost sa drugim GenBank sekvencama (%)	Pristupni brojevi drugih GenBank sekvenci	BLAST rezultat(i)/ <u>Konačna identifikacija</u>
6: CLP/2, BL-21/1, BL-21/2)	450	99-99,8 (4 nt)	99-100	MW244879, MW244880, MW244883, MW244885, MW244888, MW244892, MW244893	<i>P. allii</i> / <u><i>P. allii</i></u>
4: KrP/2, KrP/5, KrP/6	453	100 (0 nt)	100	KY172962	<i>P. crustosum</i> / <u><i>P. crustosum</i></u>
8: 21-7	448	-	100	MK450973, FJ004403	<i>P. digitatum</i> / <u><i>P. digitatum</i></u>
1, 2, 3: DnjP/1, DnjP/3, GPP/1, GPP/2, JP/1, JP/4, KiP/1, KiP/2, LiP/2, MP/4, MP/5, NeP/1, NeP/2, NeP/3, NeP/4, ParP/1, PP/12, ŠaP/1, 19-10, 19-11, 19-12, 19-12, 19-13, 19-14	333	95-100 (17 nt)	97-100	HG993297, FR997367, FR997373, FR997385, FR997388, FR997389, FR997395, FR997400	<i>P. expansum</i> / <u><i>P. expansum</i></u>
5: SZ-16-2, KrP/3, KrP/4, KrP/9	454	97,8-100 (10 nt)	99,6-100	AY674396, AY674397	<i>P. italicum</i> / <u><i>P. italicum</i></u>
9: SZ-20-6	473	-	99,8	KY469163, AY674443	<i>P. olsonii</i> / <u><i>P. olsonii</i></u>
7: SZ-18/1, SZ-18/2, SZ-18/3, SZ-16-2/2, LiP/3, LiP/4, ParP/3	456	100 (0 nt)	100	MK450899, KY172966	<i>P. polonicum</i> / <u><i>P. polonicum</i></u>
10: CLP/3, CLP/4, CLP/5, CLP/7, DnjP/2, KrP/7, KroP/1, ParP/2, PP/14	440	99,8-100	99,8-100	KU516400- KU516404	<i>T. minioluteus</i> / <u><i>T. minioluteus</i></u>
11: KrP/1, KrP/8, LiP/1	421	97,8-100 (11 nt)	97,5-99,6	CP055899	<i>T. rugulosus</i> / <u><i>T. rugulosus</i></u>

Tabela 8. Molekularna identifikacija odabranih izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp. na osnovu *CaM*. Podebljani, podvučeni i sivo obojeni tekst predstavlja rezultat konačne identifikacije.

Morfološka podgrupa: Izolati	Najveća zajednička dužina sekvenci (nt) iz ove studije	Medusobna nukleotidna identičnost naših sekvenci (%/broj nt razlike)	Identičnost sa drugim GenBank sekvencama (%)	Pristupni brojevi drugih GenBank sekvenci	BLAST rezultat(i)/ <u>Konačna identifikacija</u>
6: BL-21/1, BL-21/2	509	100 (0 nt)	100	MK451577	<i>P. allii</i> / <u>P. allii</u>
4: KrP/6	519	-	100	ON330415	<i>P. crustosum</i> / <u>P. crustosum</u>
2: 19-12	522	-	99,42	MG714827	<i>P. expansum</i> / <u>P. expansum</u>
5: SZ-16-2, KrP/9	520	98,45 (8 nt)	98,48-99,2	MT976090, ON082769, DQ911135	<i>P. italicum</i> , <i>Penicillium</i> sp./ <u>P. italicum</u>
7: SZ-18/1, SZ-18/2, SZ-18/3, SZ-16-2/2	513	100 (0 nt)	99,81-100	MK451635, CP139883	<i>P. polonicum</i> / <u>P. polonicum</u>
10: CLP/3, CLP/4, CLP/5, CLP/7, DnjP/2, KrP/7, KroP/1, ParP/2, PP/14	481	100 (0 nt)	99,6	KU711896	<i>T. minioluteus</i> / <u>T. minioluteus</u>
11: KrP/1	512	-	100	JX140714	<i>T. rugulosus</i> / <u>T. rugulosus</u>

Tabela 9. Molekularna identifikacija odabranih izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp. na osnovu *RPB2*. Podebljani, podvučeni i sivo obojeni tekst predstavlja rezultat konačne identifikacije.

Morfološka podgrupa: Izolati	Najveća zajednička dužina sekvenci (nt) iz ove studije	Medusobna nukleotidna identičnost naših sekvenci (%/broj nt razlike)	Identičnost sa drugim GenBank sekvencama (%)	Pristupni brojevi drugih GenBank sekvenci	BLAST rezultat(i)/ <u>Konačna identifikacija</u>
6: BL-21/1, BL-21/2	1074	100 (0 nt)	99,26	MK450861	<i>Penicillium mali-</i> <i>pumilae</i> / <u>P. allii</u>
4: KrP/6	1091	-	99,72-99,90	XM_056874971, OP321279	<i>P. crustosum</i> / <u>P. crustosum</u>
2: 19-12	1094	-	100	XM_016739629, JF417427	<i>P. expansum</i> / <u>P. expansum</u>
5: SZ-16-2, KrP/9	1080	99,35 (7 nt)	98,39-98,52	KU904365	<i>P. ulaiense</i> / <u>P. expansum</u>
7: SZ-18/1, SZ-18/2, SZ-18/3, SZ-16-2/2,	1064	100 (0 nt)	100	CP139884	<i>P. polonicum</i> / <u>P. polonicum</u>
10: CLP/3, CLP/4, CLP/5, CLP/7, DnjP/2, KrP/7, KroP/1, ParP/2, PP/14	1073	99,91 (1 nt)	97,37	ON952494	<i>T. minioluteus</i> / <u>T. minioluteus</u>
11: KrP/1	1120	-	98,39	CP055898, XM_035485339	<i>T. rugulosus</i> / <u>T. rugulosus</u>

U drugoj filogenetskoj analizi konstruisano je stablo sa *BenA* sekvencama *Penicillium* spp., čiji je uređeni set obuhvatio 74 sekvence, sa zajedničkom dužinom od 328 nt. Za izradu stabla je upotrebljen je upotrebljen Kimura 2-parametarski model sa Gamma distribucijom (*eng. Kimura 2-parameter*, K2+G). Slično kao i kod stabla ITS, i ovde su sekvence bile objedinjene u dve grupe, jedna sa sekvencama *P. olsonii*, i druga sa preostalim izolatima (Slika 36). Razlika u topologiji u odnosu na prethodni gen je da je ovo stablo razgranatije, što se najbolje vidi po sekvencama *P. expansum*, koje su podeljene na više grupa, što nije bio slučaj sa ITS stablom.

Multilokusno filogenetsko stablo koje čine spojene sekvence ITS i *BenA* vrsta roda *Penicillium* predstavljalo je treće filogenetsko ispitivanje odnosa (Slika 37). Stablo je sadržalo sekvence 74 izolata (uključujući i outgroup sekvencu), čija je ukupna objedinjena dužina bila 780 nt. Na osnovu rezultata testa najbolje prilagođenog modela nukleotidne supstitucije, korišćen je Kimura 2-parametarski model sa Gamma distribucijom (K2+G) u okviru softvera MEGA 7 (K2+G). Očekivano, osnovna topologija ovog stabla se dosta poklapa sa pojedinačnim filogenetskim stablima ITS i *BenA Penicillium* sekvenci (prva i druga filogenetska analiza). Naime, i ovde su sekvence razdvojene u dva glavna klastera, jedna grupa sa izolatima *P. olsonii* i druga koja obuhvata sve ostale izolate. I u ovom slučaju su sekvence *P. expansum* raspoređene u nekoliko klastera, što je slično *BenA* stablu.

Sekvence ITS lokusa roda *Talaromyces* korišćene su za četvrtu analizu filogenije (Slika 38). Finalni set sadržao je 23 nukleotidna niza reprezentativnih i naših izolata ovog roda čija je ukupna dužina iznosila 471 nt. Ova grupa podataka upotrebljena je da bi se napravilo ML stablo prema preporučenom Tamura 3-parametarskom supstitucionom modelu sa Gamma distribucijom (*eng. Tamura 3-parameter*, T92+G). Naši izolati su se u ovoj analizi svrstali sa reprezentativnim izolatima odgovarajućih vrsta (Slika 38). U ovom stablu filogenije sekvence su bile organizovane u dve glavne grupe (bez outgroup sekvence) - jednu koja je sadržala sekvence *T. rugulosus* i *T. islandicus*, i drugu sa sekvencama ostalih vrsta.

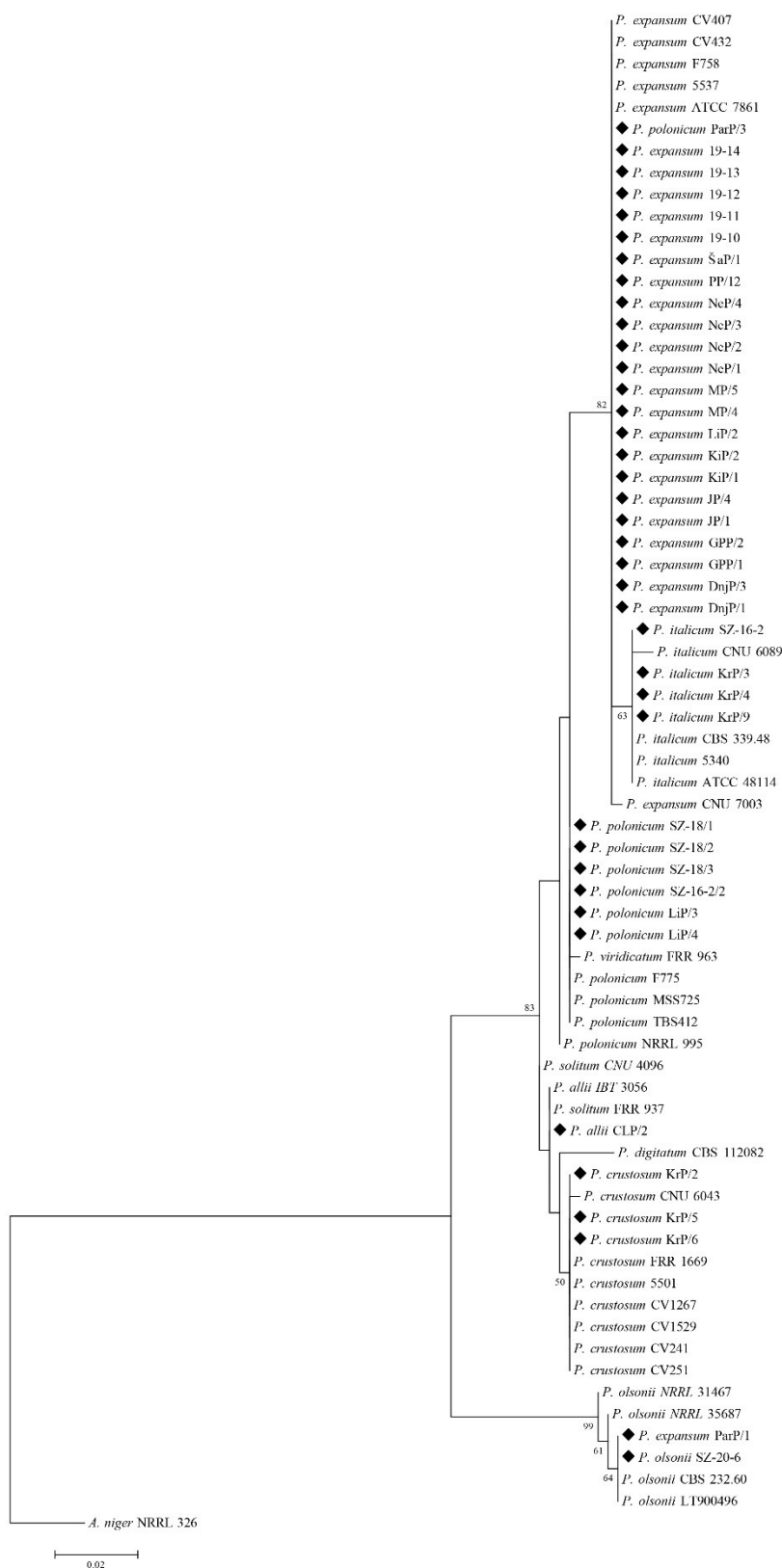
Peto filogenetsko stablo konstruisano je sa sekvencama *BenA* gena vrsta roda *Talaromyces* (Slika 39). U ovoj, petoj po redu filogenetskoj analizi, sekvence 23 izolata činile su uređeni set podataka finalne dužine od 311 nt. Ta grupa sekvenci činila je polaznu osnovu za izradu stabla prema Kimura 2-parametarskom modelu sa Gamma distribucijom i proporcijom invarijantnih mesta (K2+G+I). Isto kao i kod ITS stabla roda *Talaromyces*, izolati su se grupisali u dva glavna klastera, jedan koji je obuhvatio *T. rugulosus* i *T. islandicus*, i drugi klaster sa ostalim vrstama.

Šesta filogenetska analiza obuhvatila je multilokusno stablo (ITS+*BenA*) sa sekvencama roda *Talaromyces* (Slika 40). Finalni set podataka sadržao je 23 taksona, zajedničke dužine 782 nt, a stablo je urađeno prema preporučenom Kimura 2-parametarskom modelu sa Gamma distribucijom (K2+G). Topologija finalnog stabla bila je slična onima prikazanih u filogenijama pojedinačnih stabala ITS i *BenA* lokusa *Talaromyces* spp. - jedna grupa koja sadrži sekvence *T. rugulosus* i *T. islandicus*, i druga u koju su bile pozicionirane ostale vrste (među kojima i *T. minioluteus*) (Slika 44).

U sedmom ispitivanju filogenetskih odnosa korišćene su sekvence 4 genska lokusa (ITS, *BenA*, *CaM*, *RPB2*) izolata roda *T. minioluteus*, koji su dobijeni sa više različitih biljnih organa voća i povrća (crni luk, dunja, krompir, paradajz i pomorandža). Uz sekvence naših izolata uključene su reprezentativne sekvence vrsta iz sekcije *Trachyspermi* roda *Talaromyces* (Slika 41). Kombinovani set bio je dužine 1849 nt (pojedinačni nizovi dužine: ITS - 475 nt, *BenA* - 370 nt, *CaM* - 487 nt, *RPB2* - 517 nt), i sadržao je izolate 37 taksona, uključujući i kontrolnu (outgroup) sekvencu. Tamura-Nei model sa Gamma distribucijom (*eng. Tamura-Nei*, TN93+G) poslužio je kao najbolji model za konstrukciju ovog filogenetskog stabla. Sekvence izolata *T. minioluteus* su se grupisale u dve klade, jednu koja su činili izolati iz ovog istraživanja, i drugu koja je obuhvatala referentne izolate iste vrste poreklom iz SAD, Španije, i sekvencu čije je geografsko poreklo

nepoznato (Slika 41). Izolati naše vrste formirali su veći klaster zajedno sa izolatima *T. minnesotensis* CBS 142381 i *T. udagawae* CBS 579.72, sa visokom bootstrap podrškom od 98%.

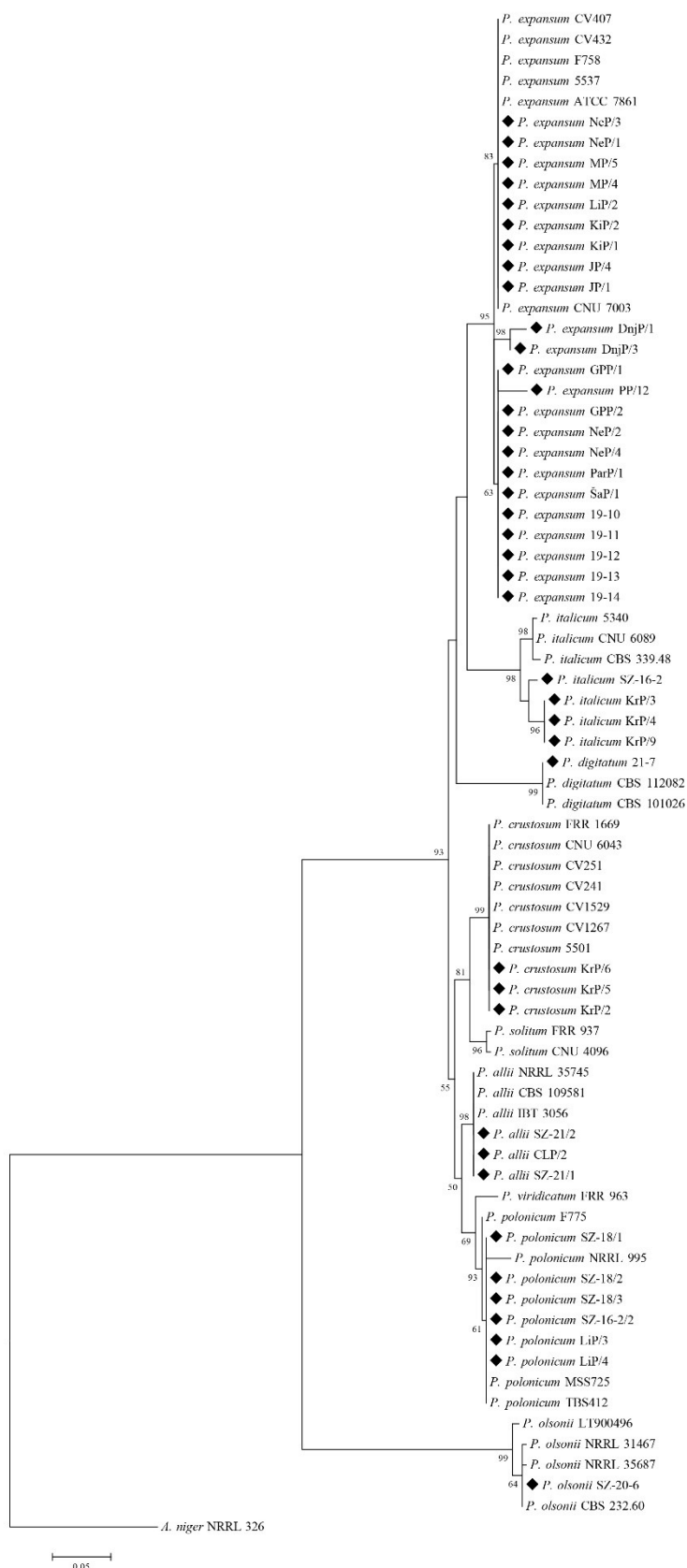
Poslednja, osma, analiza filogenetskih odnosa obuhvatala je sekvence sva 4 lokusa izolata *Penicillium* i *Talaromyces* dobijenih sa plodova kruške (Slika 42). U multigenskoj ML analizi učestvovali su sređeni setovi sekvenci ITS, *BenA*, *CaM* i *RPB2* gena, čije su dužine nakon poravnanja i skraćivanja bile, redom, 430, 301, 527 i 610 nt. Samim tim je finalni, objedinjeni set svih lokusa imao dužinu od 1868 nt, i sadržao je 49 sekvenci 14 različitih taksona (naše i reprezentativne sekvence vrsta *Penicillium* i *Talaromyces*, i outgroup sekvencu *N. phaseoli*). Kao najbolji model nukleotidne supstitucije određen je Tamura 3-parametarski model sa Gamma distribucijom i proporcijom invarijantnih mesta (T92+G+I). Sekvence izolata vrsta *P. crustosum*, *P. expansum*, *P. italicum*, *T. miniolutes* i *T. rugulosus* poreklom iz Srbije svrstale su se zajedno sa sekvencama svojih odgovarajućih vrsta, uz visoke bootstrap vrednosti, time potvrđujući morfo- i molekularnu identifikaciju ovih izolata.



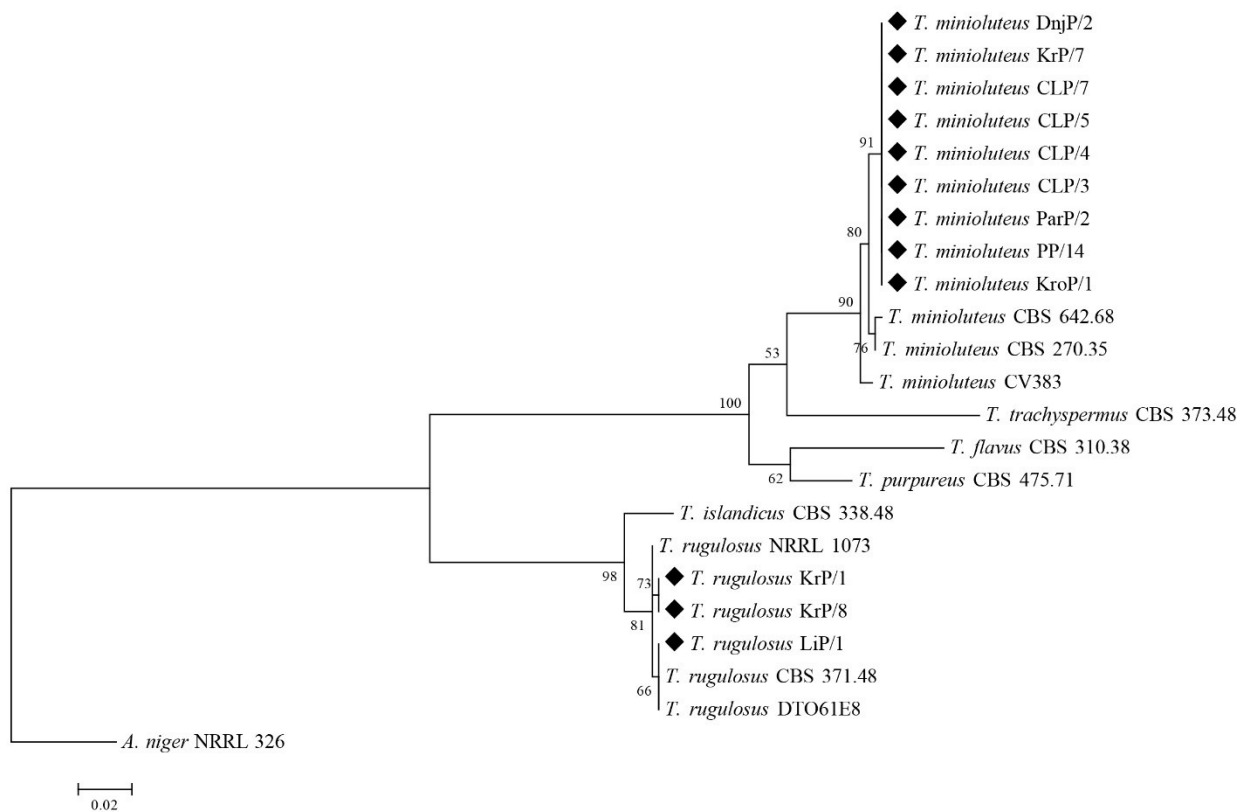
Slika 35. Prva filogenetska analiza, stablo ITS regiona *Penicillium* spp. konstruisano ML metodom. Sekvence iz ovog istraživanja označene su crnim romбом. Istaknute su bootstrap vrednosti veće od 50% pored odgovarajućih grananja. Sekvenca *A. niger* NRRL 326 je outgroup. Merni bar označava broj supstitucionih promena.



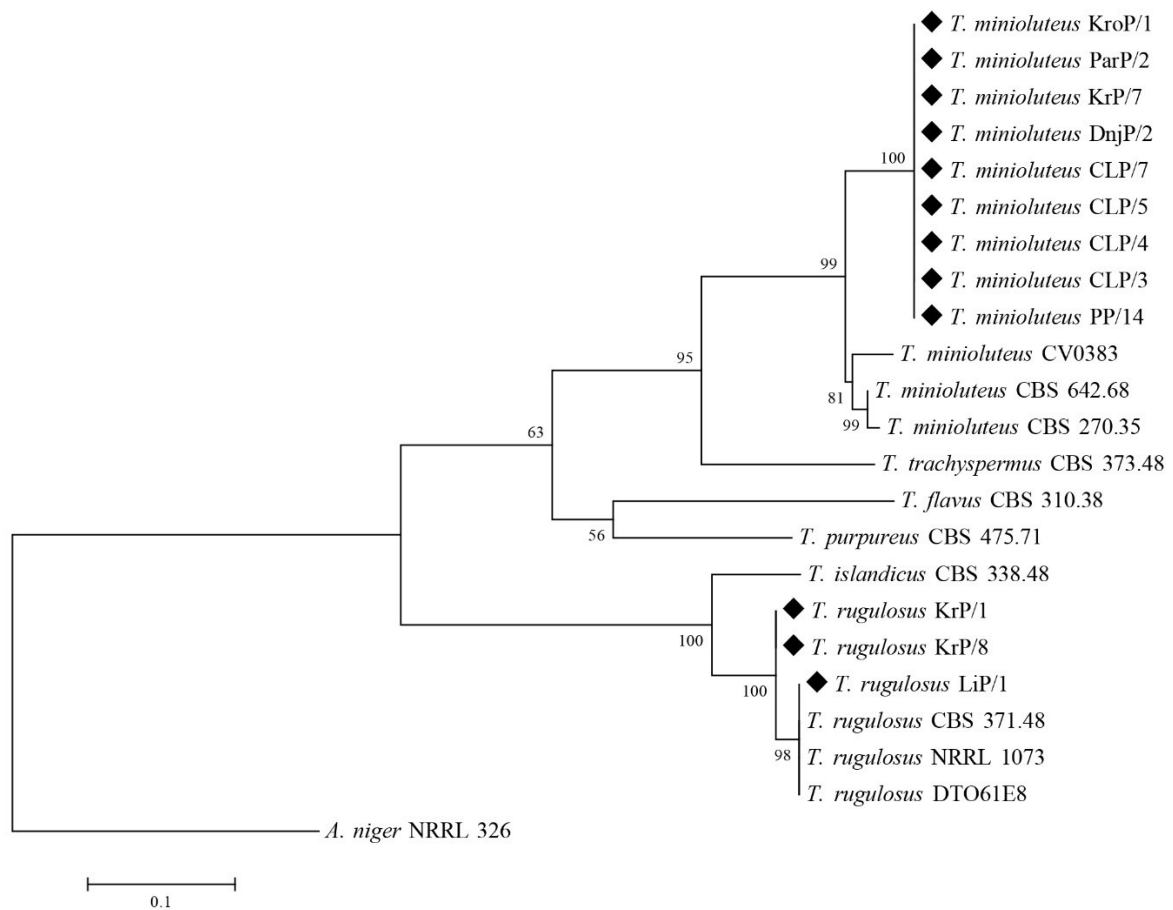
Slika 36. Druga filogenetska analiza, stablo *BenA* gena *Penicillium* spp. konstruisano ML metodom. Sekvence iz ovog istraživanja označene su crnim rombom. Istaknute su bootstrap vrednosti veće od 50% pored odgovarajućih grananja. Sekvenca *A. niger* NRRL 326 je outgroup. Merni bar označava broj supstitucionih promena.



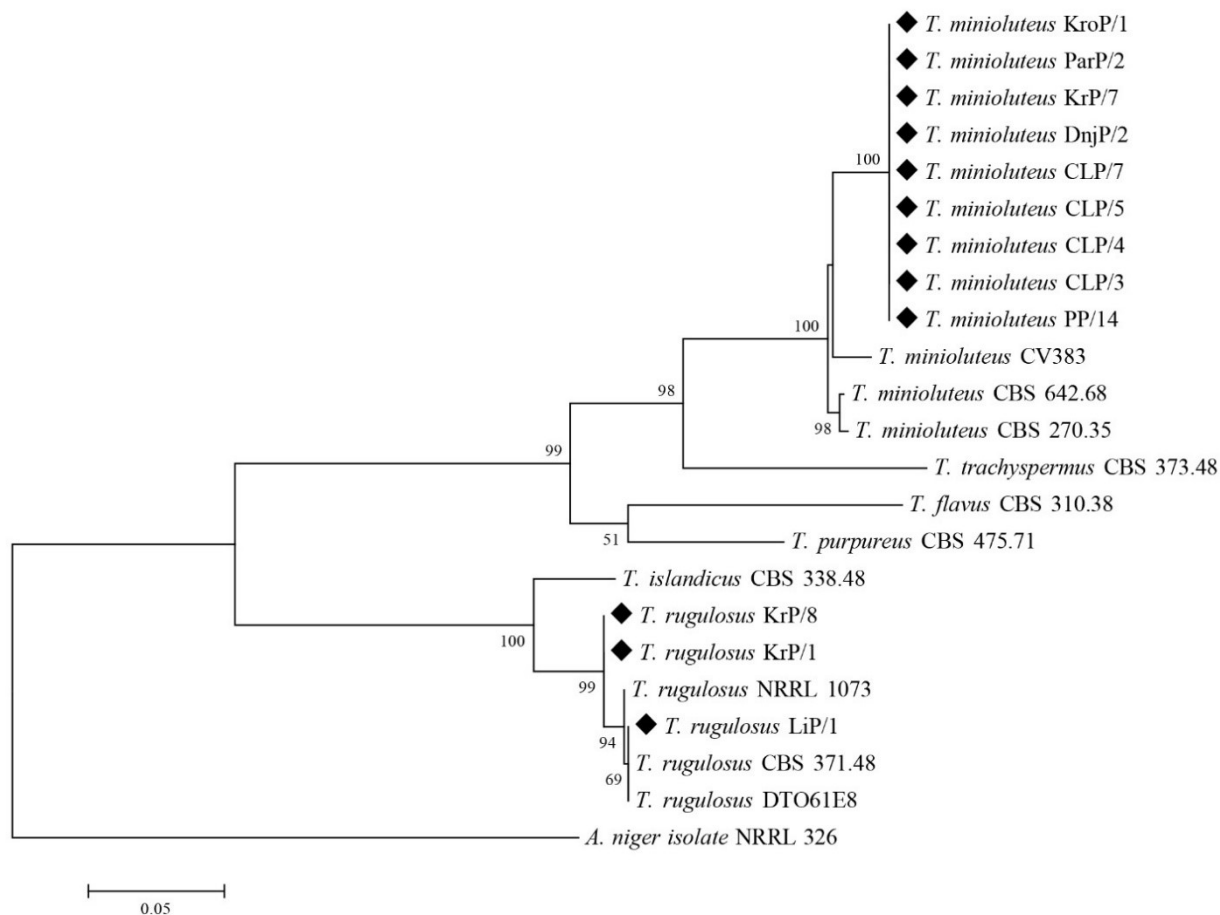
Slika 37. Treća filogenetska analiza, multilokus stablo (ITS i *BenA*) regiona *Penicillium* spp. konstruisano ML metodom. Sekvence iz ovog istraživanja označene su crnim rombom. Istaknute su bootstrap vrednosti veće od 50% pored odgovarajućih grananja. Sekvenca *A. niger* NRRL 326 je outgroup. Merni bar označava broj supstitucionih promena.



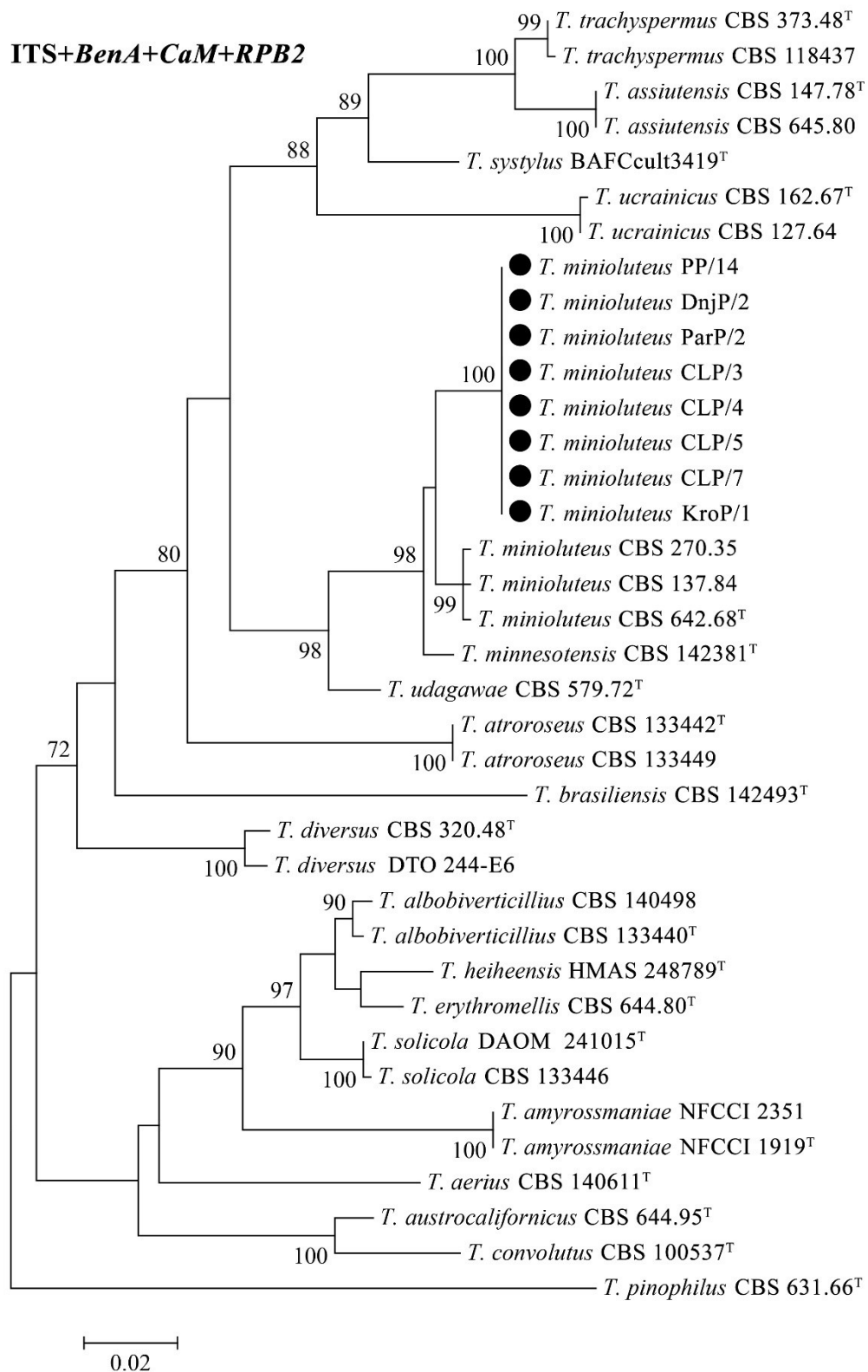
Slika 38. Četvrta filogenetska analiza, stablo ITS regiona *Talaromyces* spp. konstruisano ML metodom. Sekvence iz ovog istraživanja označene su crnim romбом. Istaknute su bootstrap vrednosti veće od 50% pored odgovarajućih grananja. Sekvenca *A. niger* NRRL 326 je outgroup. Merni bar označava broj supstitucionih promena.



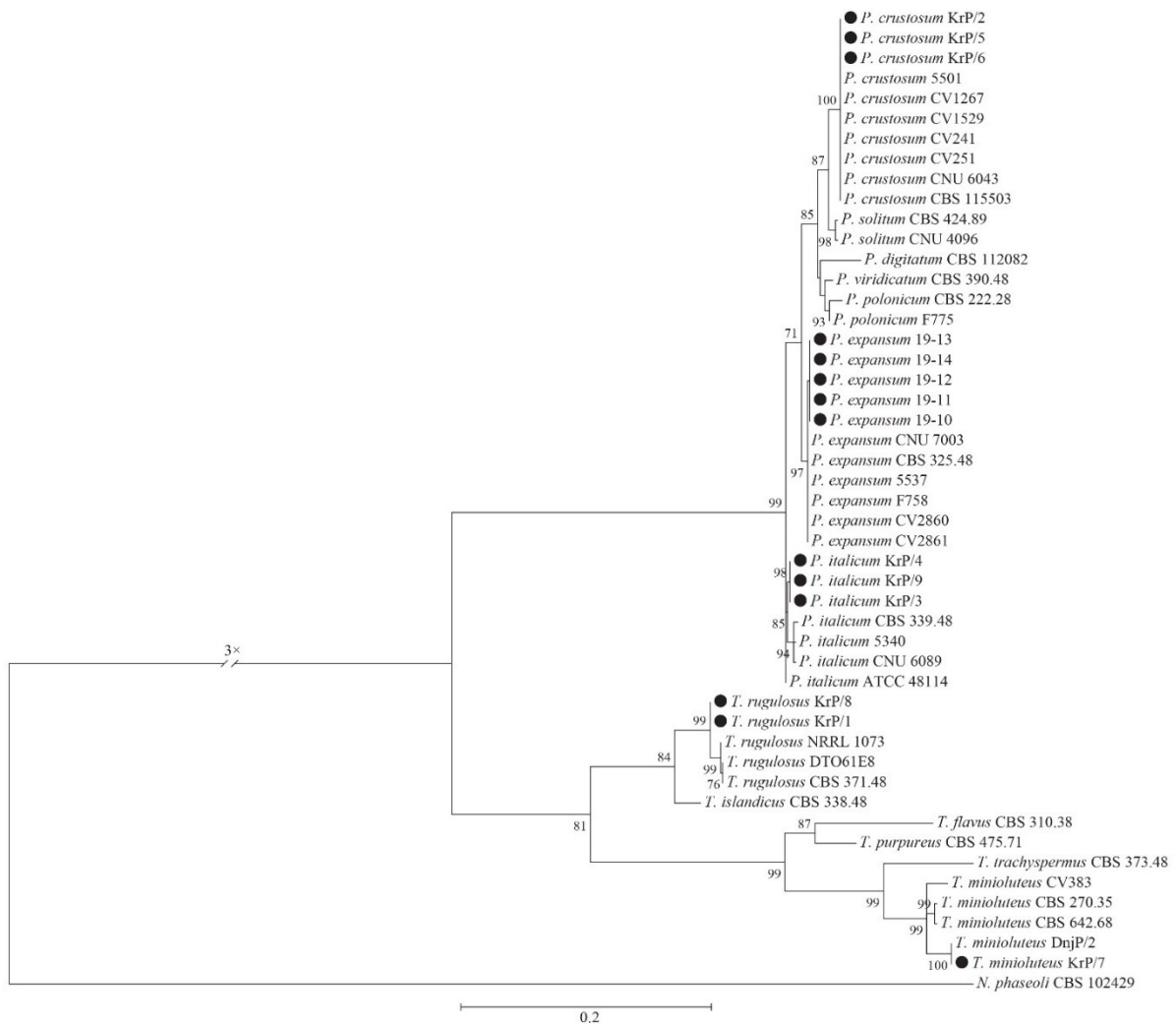
Slika 39. Peta filogenetska analiza, stablo *BenA* gena *Talaromyces* spp. konstruisano ML metodom. Sekvence iz ovog istraživanja označene su crnim rombom. Istaknute su bootstrap vrednosti veće od 50% pored odgovarajućih grananja. Sekvenca *A. niger* NRRL 326 je outgroup. Merni bar označava broj supstitucionih promena.



Slika 40. Šesta filogenetska analiza, multilokus stablo (ITS i *BenA*) *Talaromyces* spp. konstruisano ML metodom. Sekvence iz ovog istraživanja označene su crnim romбом. Istaknute su bootstrap vrednosti veće od 50% pored odgovarajućih grananja. Sekvenca *A. niger* NRRL 326 je outgroup. Merni bar označava broj supstitucionih promena.



Slika 41. Sedma filogenetska analiza, multilokus stablo (ITS+BenA+CaM+RPB2) izolata *Talaromyces minioluteus*. konstruisano ML metodom. Sekvence iz ovog istraživanja označene su crnim krugom. Istaknute su bootstrap vrednosti veće od 70% pored odgovarajućih grananja. Sekvenca *Talaromyces pinophilus* (CBS 631.66) je outgroup. Merni bar označava broj supstitucionih promena.



Slika 42. Osmo filogenetska analiza, multilokus stablo (ITS+BenA+CaM+RPB2) izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp. konstruisano ML metodom. Sekvence iz ovog istraživanja (poreklom sa ploda kruške) označene su crnim krugom. Istaknute su bootstrap vrednosti veće od 70% pored odgovarajućih grananja. Sekvenca *Neocosmospora phaseoli* (CBS 102429) je outgroup. Merni bar indikator označava broj supstitucionih promena.

Nakon završene identifikacije konvencionalnim, molekularnim i filogenetskim metodama, može se ostvariti uvid u distribuciju izolovanih vrsta u odnosu na biljke domaćine sa kojih su dobijeni. Od 14 sakupljenih biljnih domaćina, sa 7 je izolovana samo po jedna vrsta, dok je sa preostalih 7 izolovano dve ili više vrsta *Penicillium*/*Talaromyces*. Od izolovanih vrsta, *P. expansum* je uzorkovan sa najvećeg broja različitih biljaka-domaćina (11 domaćina). Sledeći su bili *T. minioluteus* (6 domaćina) i *P. polonicum* (3 domaćina) (Tabela 10).

Tabela 10. Distribucija identifikovanih vrsta *Penicillium/Talaromyces* sa sakupljenih biljaka domaćina. Crna tačka u ćeliji označava da je sa te biljke izolovana neka od *Penicillium/Talaromyces* vrsta.

	<i>P. allii</i>	<i>P. crustosum</i>	<i>P. digitatum</i>	<i>P. italicum</i>	<i>P. expansum</i>	<i>P. polonicum</i>	<i>P. olsonii</i>	<i>T. minioluteus</i>	<i>T. rugulosus</i>
Jabuka					•				
Kruška		•		•	•			•	•
Dunja					•			•	
Nektarina					•				
Limun			•		•	•			•
Pomorandža					•			•	
Mandarina					•				
Grejpfrut					•				
Kivi					•				
Paradajz					•	•	•	•	
Crni luk	•							•	
Beli luk	•			•		•			
Šargarepa					•				
Krompir								•	
Ukupan broj domaćina	2	1	1	1	11	3	1	6	2

4.6. Patogenost ispitivanih izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp.

Sedam dana nakon veštačkih inokulacija sa izolatima *Penicillium* i *Talaromyces*, na skoro svim plodovima, korenima i lukovicama uočeni su simptomi plavih ili zelenih truleži. Na krtolama krompira izolat *T. minioluteus* nije ispoljio patogenost, dok je promena izazvana izolatom *P. italicum* na plodu kruške bila reakcija tkiva ploda na veštačku inokulaciju (*eng. tissue-response lesions*). Uočeni simptomi bili su vrlo slični onima koji su zabeleženi kod prikupljenih, prirodno inficiranih plodova. Na biljnim organima koji su predstavljali negativnu kontrolu nije bilo simptoma bolesti. U cilju potvrde Kohovih postulata, izvršena je reizolacija patogena sa veštački inficiranih plodova na MEA podlogu. Dobijeni reizolati su odgovarali na osnovu morfoloških osobina izvornim izolatima.

4.6.1. Patogenost izolata *P. expansum*, *P. crustosum*, *T. minioluteus* i *T. rugulosus* na plodovima kruške

U ogledu provere patogenosti dobijenih izolata na plodu kruške, izolati *P. expansum*, *P. crustosum*, *T. minioluteus* i *T. rugulosus* su potvrđeni kao patogeni (Slika 43-47). Izolati *P. italicum* su izazvali leziju koja odgovara reakciji tkiva ploda (Slika 45). Simptomi koje su izolovane gljive prouzrokovale na veštački inokulisanim plodovima kruške su ulegnuće površine ploda oko mesta inokulacije, promena boje tkiva iz svetlozelene u braon, razmekšavanje tog tkiva, i sporulacija koja se ispoljila kod svih vrsta osim kod plodova inokulisanih sa izolatima *T. rugulosus*. Spore su bile tamnije maslinastozelene boje kod vrsta iz roda *Penicillium* (*P. crustosum*, *P. italicum* i *P. expansum*), a tamnozeleno kod *T. minioluteus*. Na uzdužnim presecima se moglo videti destruktivno dejstvo patogena unutar plodova. Infekcija je zahvatila veliki deo mezokarpa plodova kruške, pri čemu je u slučaju *P. crustosum*, *P. expansum* i *T. minioluteus* dosegla i endokarpalni deo (Slike 43B, 44B, 46B). Kod *P. italicum* razlaganje tkiva ploda je bilo ograničeno, i napredovanje gljive ka centralnoj osi ploda je bilo vrlo brzo zaustavljeno, maltene inkapsulirano (Slika 45B). Utvrđena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u stepenu patogenosti ispitivanih vrsta (Slika 48): *P. crustosum* i *P. expansum* su na plodovima produkovale nekrotične lezije većeg prečnika, u odnosu na izolate vrsta *T. minioluteus*, *T. rugulosus* i *P. italicum*. Najvirulentnija vrsta bila je *P. expansum*, sa prosečnim prečnikom nekroze od 42,5 mm, a najmanje virulentna *T. rugulosus* (prosek dijametra nekroza 18,17 mm). Kolonije reizolata dobijenih sa veštački inokulisanih plodova bile su istih morfoloških odlika kao kolonije izvornih izolata. Na kontrolnim plodovima nije došlo do razvoja simptoma bolesti.



Slika 43. Simptomi truleži plodova kruške nakon veštačke inokulacije.
A. Levo-plodovi inficirani sa *P. crustosum* (izolat KrP/6), desno-kontrola. **B.** Uzdužni presek inficiranog ploda.



Slika 44. Simptomi truleži plodova kruške nakon veštačke inokulacije.
A. Levo-plodovi inficirani sa *P. expansum* (izolat 19-12), desno-kontrola. **B.** Uzdužni presek inficiranog ploda.



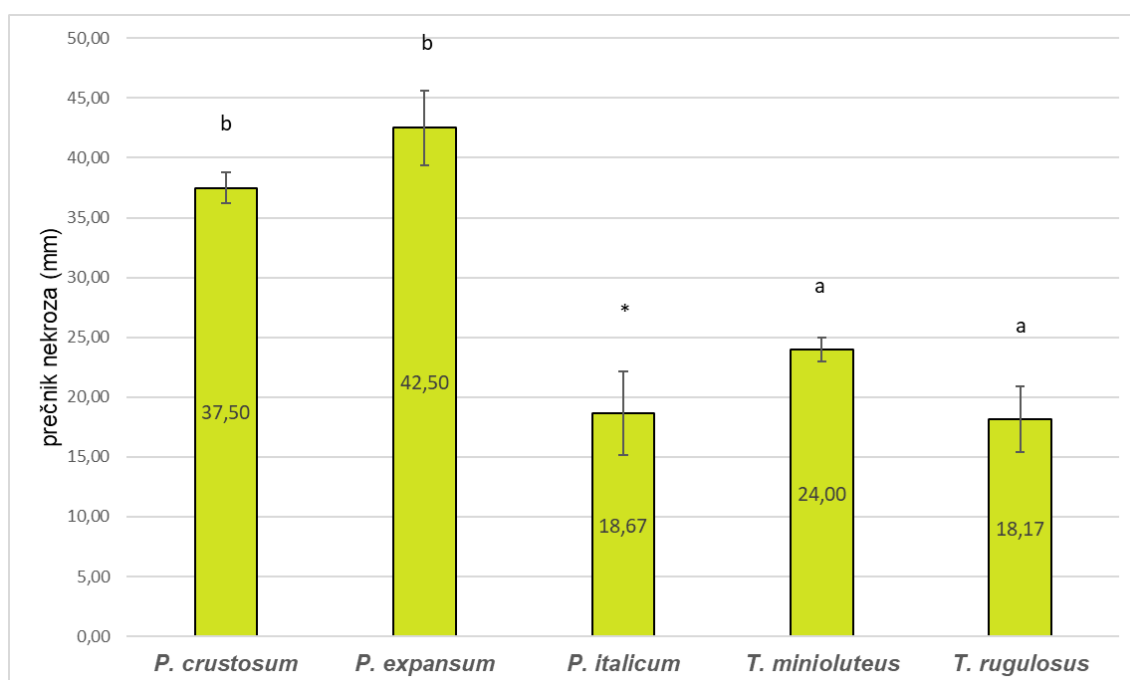
Slika 45. Simptomi truleži plodova kruške nakon veštačke inokulacije.
A. Levo-plodovi inficirani sa *P. italicum* (izolat KrP/9), desno-kontrola. **B.** Uzdužni presek inficiranog ploda.



Slika 46. Simptomi truleži plodova kruške nakon veštačke inokulacije.
A. Levo-plodovi inficirani sa *T. minioluteus* (izolat KrP/7), desno-kontrola. **B.** Uzdužni presek inficiranog ploda.



Slika 47. Simptomi truleži plodova kruške nakon veštačke inokulacije. **A.** Levo-plodovi inficirani sa *T. rugulosus* (izolat KrP/1), desno-kontrola. **B.** Uzdužni presek inficiranog ploda.



Slika 48. Prečnici nekroza izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp. na plodovima kruške. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$), a vrednost *P. italicum* je označena zvezdicom jer su lezije odgovarale odgovoru tkiva ploda na infekciju.

4.6.2. Patogenost izolata *P. expansum* i *T. minioluteus* na plodovima dunje

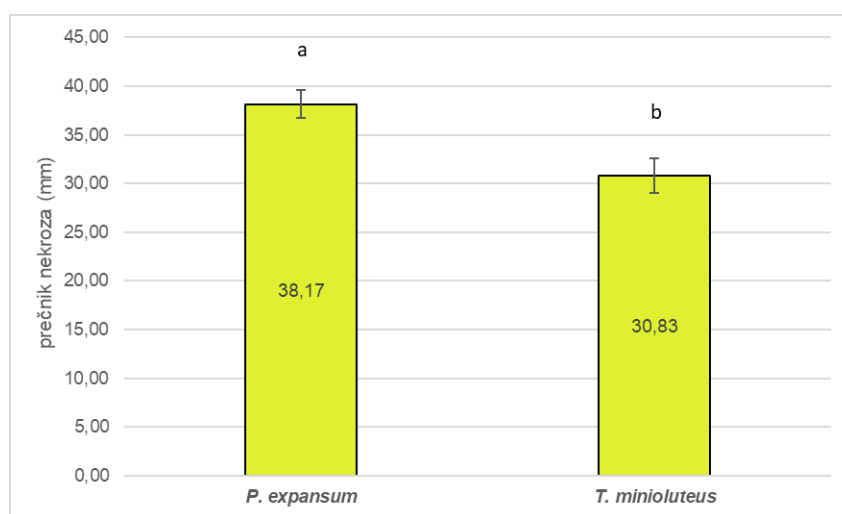
Sa plodova dunje izolovane su dve vrste, *P. expansum* (DnjP/1, DnjP/3) i *T. minioluteus* (DnjP/2). Izolati obe vrste na veštački inokulisanim plodovima dunje izazivaju ulegnute, veće nekrotične površine braon boje, praćene slabijom sporulacijom (Slike 49 i 50). Na vertikalnim presecima unutrašnje tkivo plodova je bilo vodenasto, razmekšano, sa nekrozom koja je obuhvatila veliki deo mezokarpa, šireći se često do samog endokarpa (Slike 49B i 50B). U t-testu utvrđena je statistička značajna razlika ($p < 0,05$) u prosečnim vrednostima prečnika nekroza između ove dve vrste (Slika 51). *P. expansum* je bio virulentniji, sa prosečnim nekrozom od 38,17 mm, dok je prečnik nekroza na plodovima dunje inokulisanim sa *T. minioluteus* bio nešto manji (30,83 mm). Kolonije reizolata dobijenih sa veštački inokulisanih plodova bile su istih morfoloških odlika kao kolonije izvornih izolata. Na kontrolnim plodovima nije došlo do razvoja simptoma bolesti.



Slika 49. Simptomi truleži plodova dunje nakon veštačke inokulacije.
A. Levo-plodovi inficirani sa *P. expansum* (izolat DnjP/1), desno-kontrola. **B.** Uzdužni preseci.



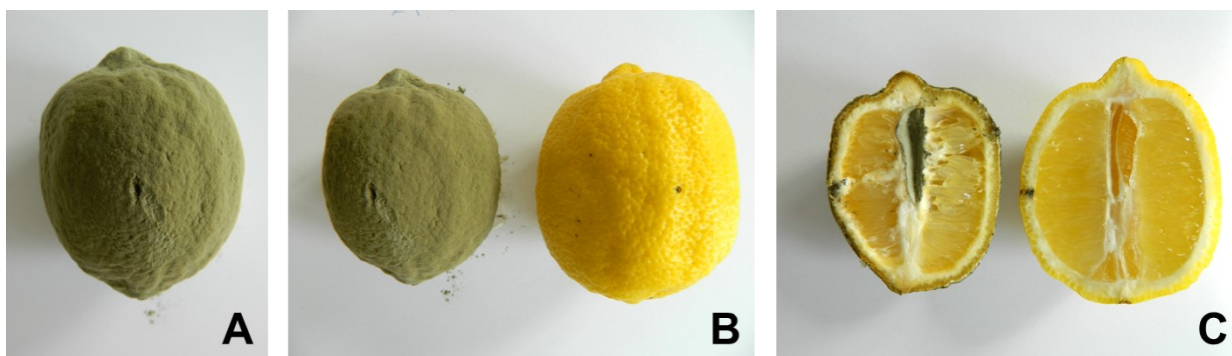
Slika 50. Simptomi truleži plodova dunje nakon veštačke inokulacije. **A.** Levo-plodovi inficirani sa *T. minioluteus* (izolat DnjP/2), desno-kontrola. **B.** Uzdužni preseči.



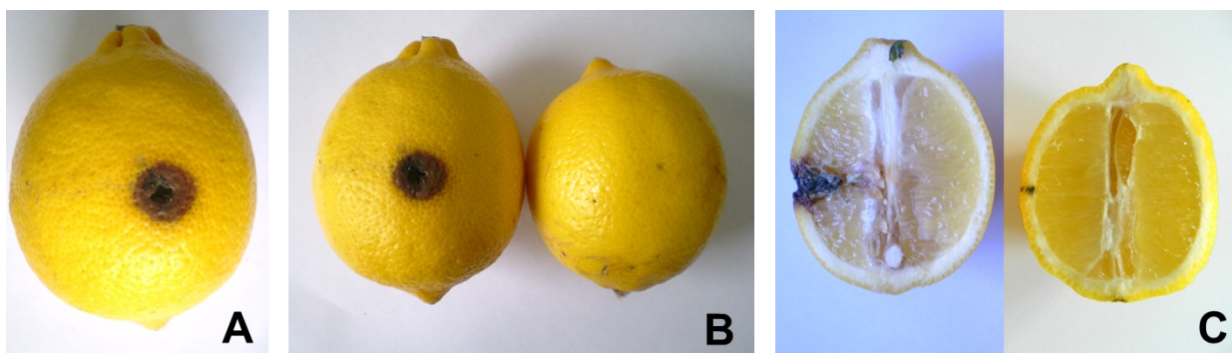
Slika 51. Prečnici nekroza izolovanih *Penicillium* i *Talaromyces* spp. u testu patogenosti na plodovima dunje. Vrednosti označene različitim slovom su statistički značajno različite prema Studentovom t-testu ($p < 0,05$)

4.6.3. Patogenost izolata *P. expansum*, *P. polonicum*, *P. digitatum* i *T. rugulosus* na plodovima limuna

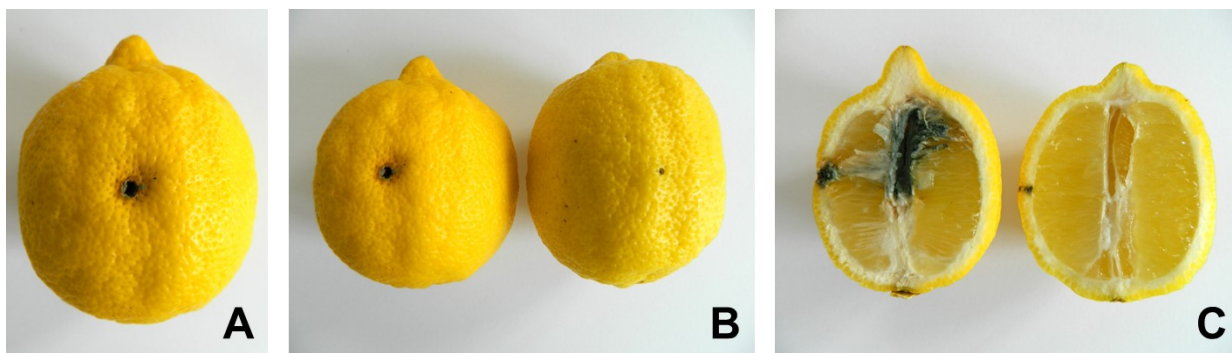
Sa plodova limuna izolovani su: *P. expansum*, *P. polonicum*, *P. digitatum* i *T. rugulosus*. U testu provere patogenosti na plodovima limuna došlo je do razvoja sledećih simptoma: tačkaste nekroze izazvane izolatima vrsta *T. rugulosus* (izolat LiP/1, Slika 55) i *P. polonicum* (izolat LiP/4, Slika 54); veće nekrotične tamnobraon pege koju je prouzrokovao *P. expansum* (izolat LiP/2, Slika 53) ili potpuno prekrivanje plodova sporama *P. digitatum* (izolat 21-7, Slika 52). Na uzdužnim presecima uočeno je tipično razmekšavanje unutrašnjeg tkiva ploda. Isti simptom zabeležen je i kod plodova koji su imali male spoljašnje nekroze (Slike 52-55). U slučaju *P. digitatum*, primećeno je sušenje i mumificiranje veštački inokulisanih plodova. Na presecima plodova uočena je sporulacija patogena. Utvrđene su statistički značajne razlike u prečnicima lezija između izolovanih vrsta. Najveće lezije izazvao je *P. digitatum* (74,83 mm), a najmanje *T. rugulosus* (2,67 mm) i *P. polonicum* (2,83 mm) (Slika 56). Fenotipski izgled reizolata dobijenih sa veštački inokulisanih lukovica odgovarao je izgledu izvornih izolata. Na kontrolnim plodovima nije došlo do razvoja simptoma bolesti.



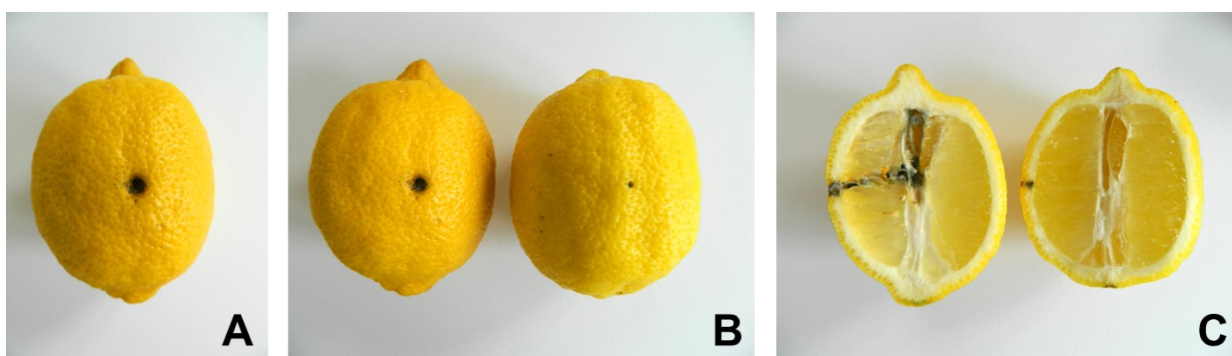
Slika 52. Simptomi truleži plodova limuna nakon veštačke inokulacije.
A. Plod inokulisan sa *P. digitatum* (izolat 21-7). **B.** Levo-plod inokulisan patogenom, desno-kontrola. **C.** Preseci plodova, levo-plod inokulisan patogenom, desno-kontrola.



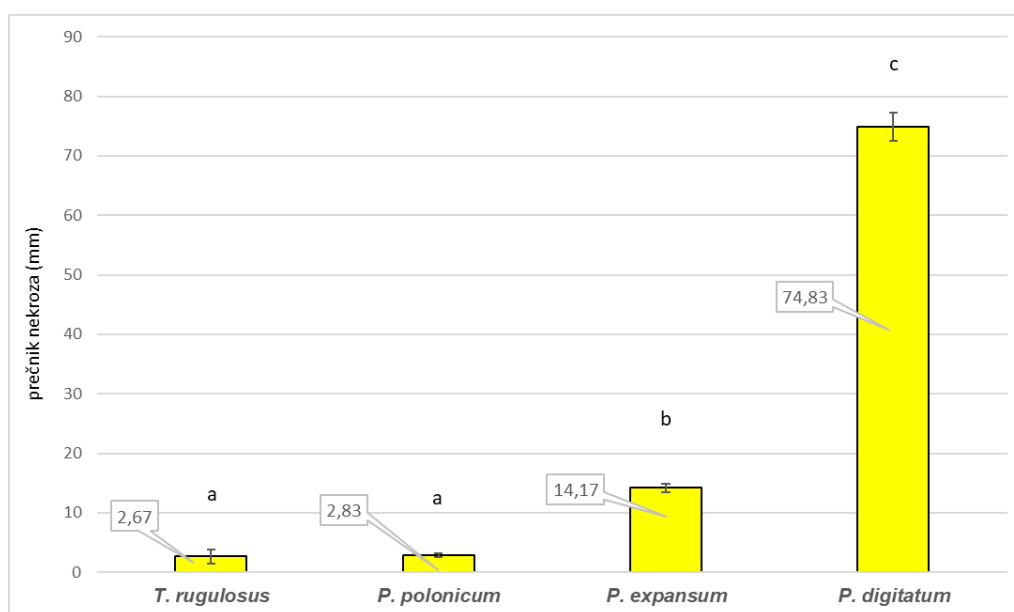
Slika 53. Simptomi truleži plodova limuna nakon veštačke inokulacije.
A. Plod inokulisan sa *P. expansum* (izolat LiP/2). **B.** Levo-plod inokulisan patogenom, desno-kontrola. **C.** Preseci plodova, levo-plod inokulisan patogenom, desno-kontrola.



Slika 54. Simptomi truleži plodova limuna nakon veštačke inokulacije.
A. Plod inokulisan sa *P. polonicum* (izolat LiP/4). **B.** Levo-plod inokulisan patogenom, desno-kontrola. **C.** Preseci plodova, levo-plod inokulisan patogenom, desno-kontrola.



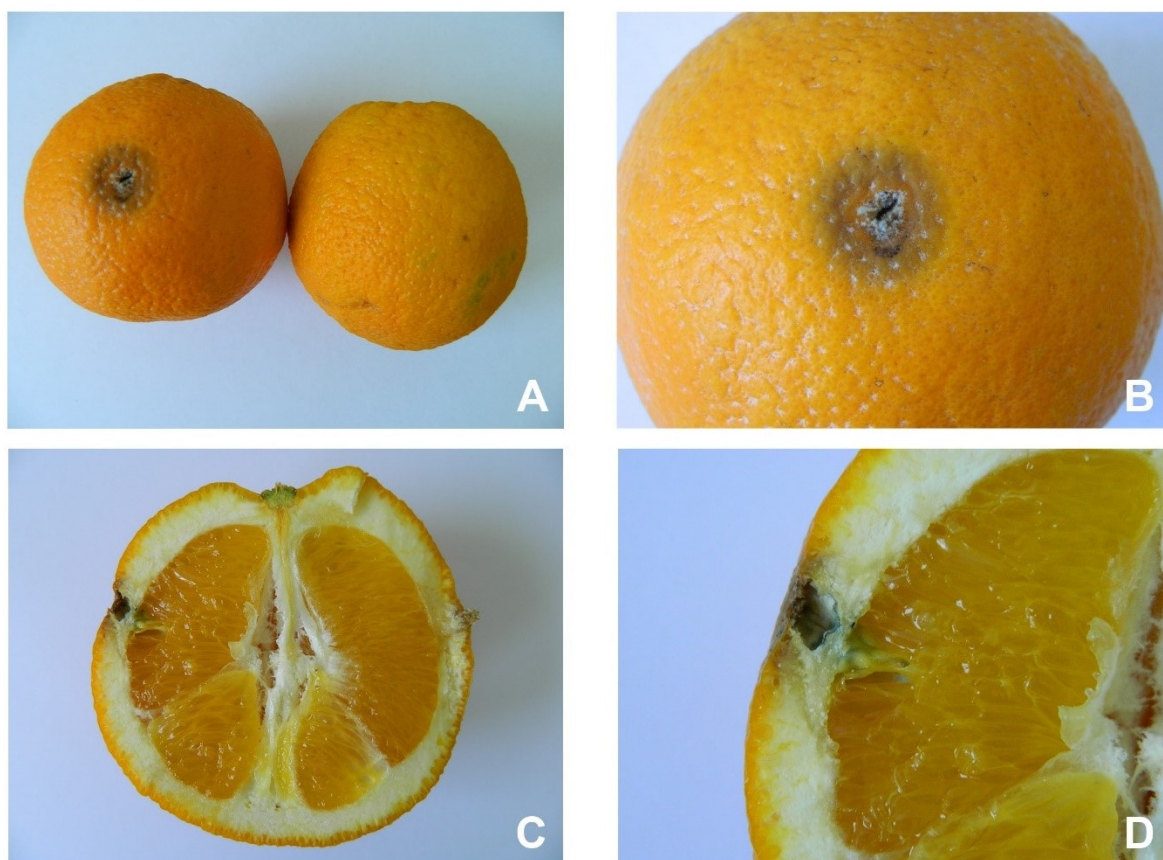
Slika 55. Simptomi truleži plodova limuna nakon veštačke inokulacije.
A. Plod inokulisan sa *T. rugulosus* (izolat LiP/1). **B.** Levo-plod inokulisan patogenom, desno-kontrola. **C.** Preseci plodova, levo-plod inokulisan patogenom, desno-kontrola.



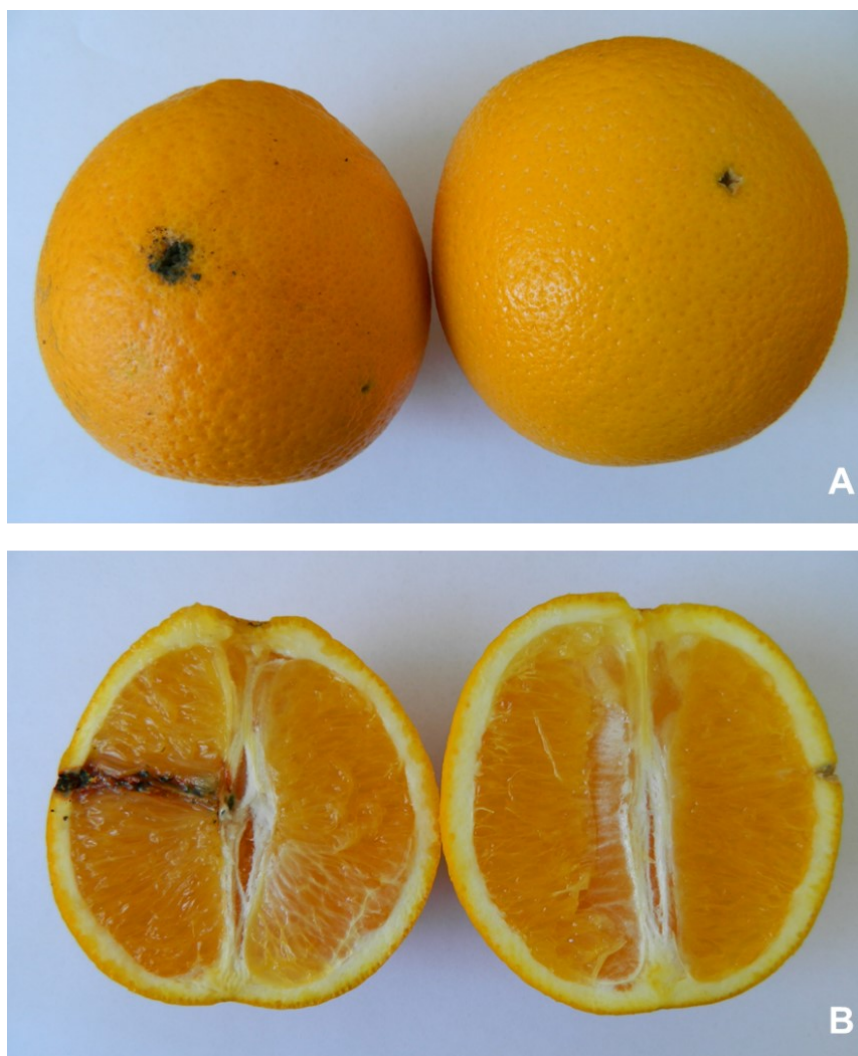
Slika 56. Prečnici nekroza izolovanih *Penicillium* i *Talaromyces* spp. u testu patogenosti na plodovima limuna. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$)

4.6.4. Patogenost izolata *P. expansum* i *T. minioluteus* na plodu pomorandže

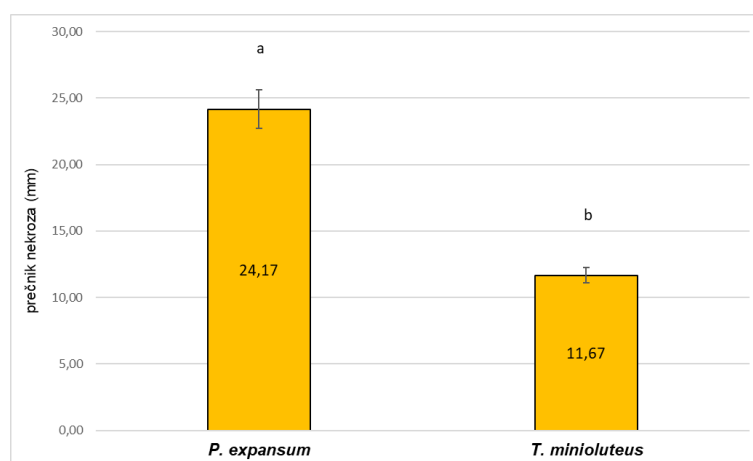
U testu patogenosti na plodovima pomorandže, intenzitet razvijenih simptoma se razlikovao između izolovanih vrsta (*P. expansum* i *T. minioluteus*). Izolati *P. expansum* prouzrokovali su blago ulegnute, nekrotične braon pege, sa slabijom sporulacijom oko mesta inokulacije (Slika 57A-B). Izolati *T. minioluteus* izazvali su sitne tačkaste nekroze tamne boje (Slika 58A). Na presecima duž vertikalne ose (Slike 57C-D i 58B) uočeno je da su oba patogena izazvali razmekšavanje tkiva voćne pulpe. Utvrđena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u srednjim vrednostima nekroza koje su izazvale ove dve vrste na plodovima pomorandže – *P. expansum* je prouzrokovao veće nekroze (prosek 24,17 mm), dok je prosečan prečnik nekroza *T. minioluteus* bio 11,67 mm (Slika 59). Morfološki izgled reizolata dobijenih sa veštački inokulisanih plodova bio je isti izgledu izvornih izolata. Na kontrolnim plodovima nije došlo do razvoja simptoma bolesti.



Slika 57. Simptomi truleži plodova pomorandže nakon veštačke inokulacije.
A. Levo-plod inficiran sa *P. expansum* (izolat PP/12), desno-kontrola. **B.** Infekcija na veštački inokulisanom plodu. **C-D.** Uzdužni presek inficiranog ploda.



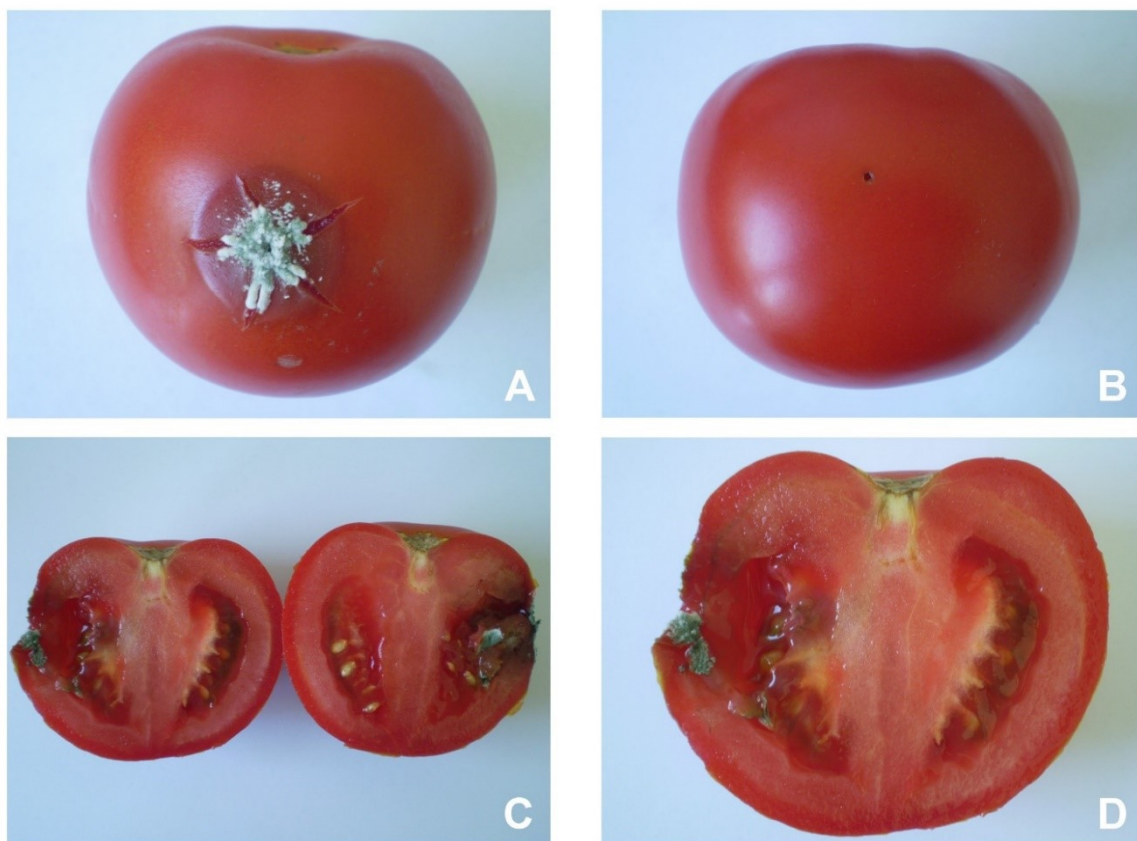
Slika 58. Simptomi truleži plodova pomorandže nakon veštačke inokulacije. **A.** Levo-plod inficiran sa *T. minioluteus* (izolat PP/14), desno-kontrola. **B.** Uzdužni preseći inficiranog ploda (levo) i kontrole (desno).



Slika 59. Prečnici nekroza izolovanih *Penicillium* i *Talaromyces* spp. na plodovima pomorandže. Vrednosti označene različitim slovom su statistički značajno različite prema Studentovom t-testu ($p < 0,05$).

4.6.5. Patogenost izolata *P. expansum*, *T. minioluteus*, *P. polonicum* i *P. olsonii* na plodovima paradajza

Sa plodova paradajza su izolovane četiri različite vrste gljiva – *P. expansum*, *T. minioluteus*, *P. polonicum* i *P. olsonii*, i sve su prouzrokovale slične simptome u testu patogenosti (Slike 60-63). Uočena su ulegnuća površine oko mesta uboda, tkivo plodova je bilo mekano, i na mestu uboda razvila se micelija bele boje praćena sporulacijom. Boja spora se razlikovala, izolati *P. polonicum* i *T. minioluteus* su produkovali spore tamnozeleno boje, *P. expansum* plavkastozelene, a *P. olsonii* sivozelene. Na presecima plodova uočena je deformacija unutrašnjeg tkiva ploda (Slike 60C-D, 62B, 63C-D). U poređenju prečnika lezija, utvrđene su statistički značajne razlike – najvirulentnije vrste bile su *P. expansum* i *T. minioluteus*, sa prečnikom lezija od 23 mm, odnosno 21,33 mm. *P. olsonii* je bio srednje virulencije (prečnik lezija 15,17 mm), dok je *P. polonicum* ispoljio najmanji patogeni potencijal, sa prosečnim prečnikom lezija od 8 mm (Slika 64). Kolonije reizolata dobijenih sa veštački inokulisanih plodova bile su istih morfoloških odlika kao kolonije izvornih izolata. Na kontrolnim plodovima nije došlo do razvoja simptoma bolesti.



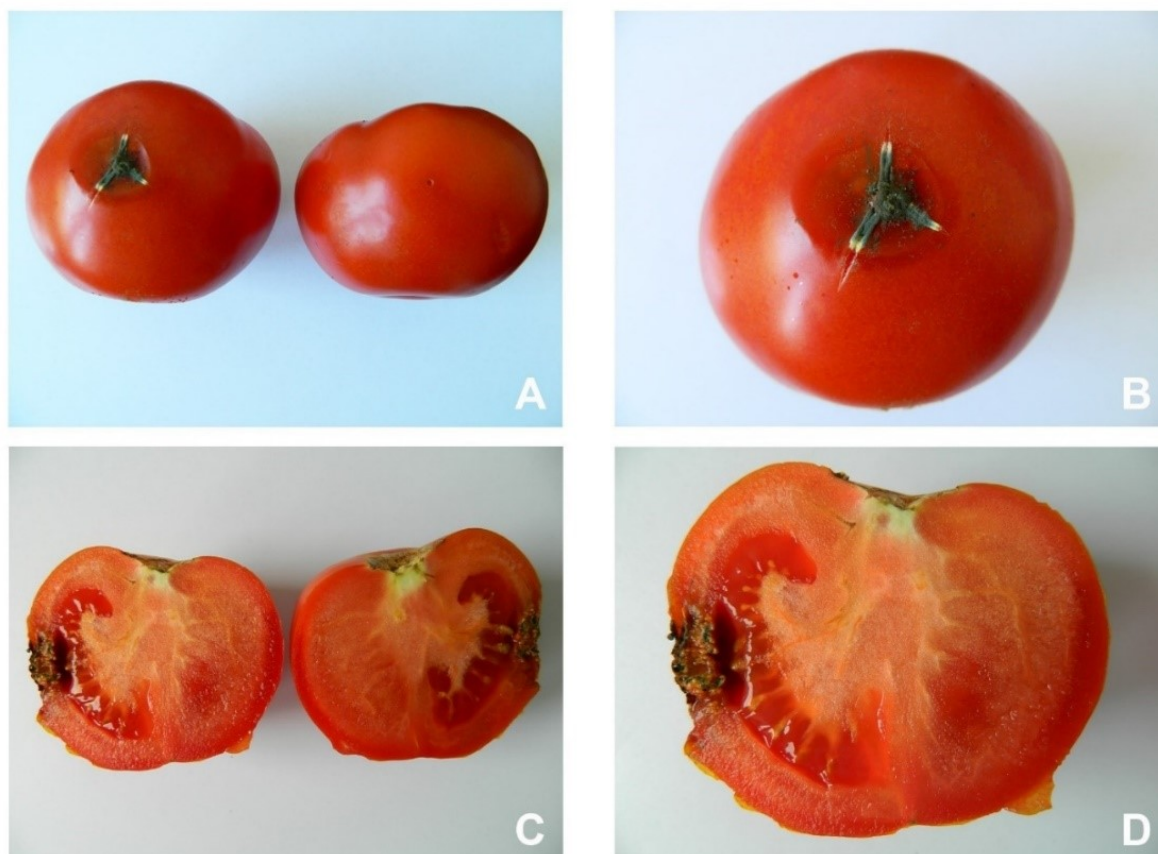
Slika 60. Simptomi truleži plodova paradajza nakon veštačke inokulacije.
A. Plod inficiran sa *P. expansum* (izolat ParP/1). B. Kontrola. C-D. Uzdužni presecci inficiranog ploda.



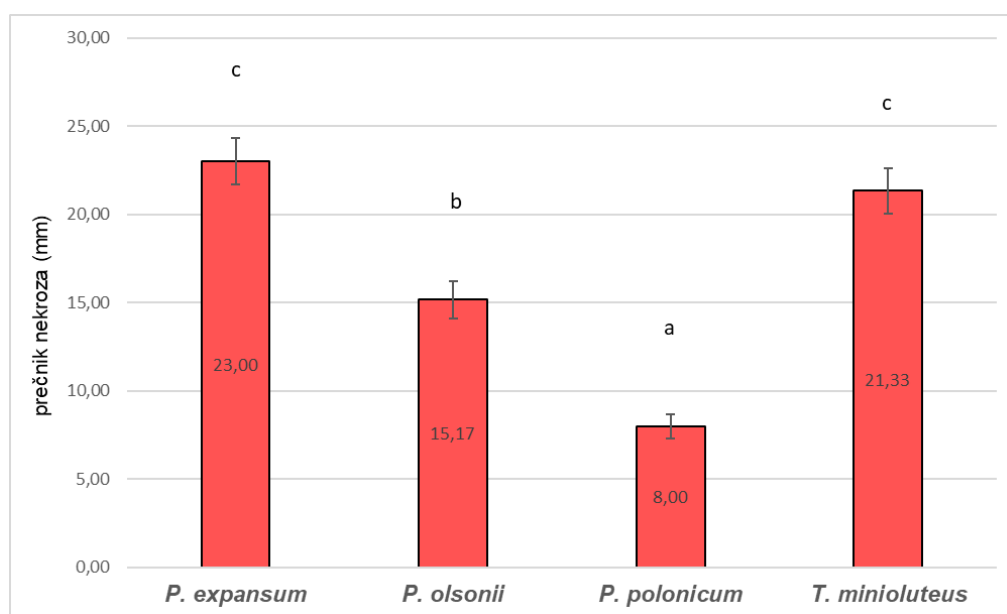
Slika 61. Simptomi truleži plodova paradajza nakon veštačke inokulacije.
A. Plod inficiran sa *P. olsonii* (izolat SZ-20-6). **B.** Kontrola.



Slika 62. Simptomi truleži plodova paradajza nakon veštačke inokulacije.
A. Levo-plod inficiran sa *P. polonicum* (izolat ParP/3), desno-kontrola. **B.** Uzdužni preseći inficiranog ploda i kontrole. **C-D.** Infekcija na veštački inokulisanom plodu.



Slika 63. Simptomi truleži plodova paradajza nakon veštačke inokulacije. **A.** Levo-plod inficiran sa *T. minioluteus* (izolat ParP/2), desno-kontrola. **B.** Plod inficiran patogenom. **C-D.** Uzdužni preseki inficiranog ploda.



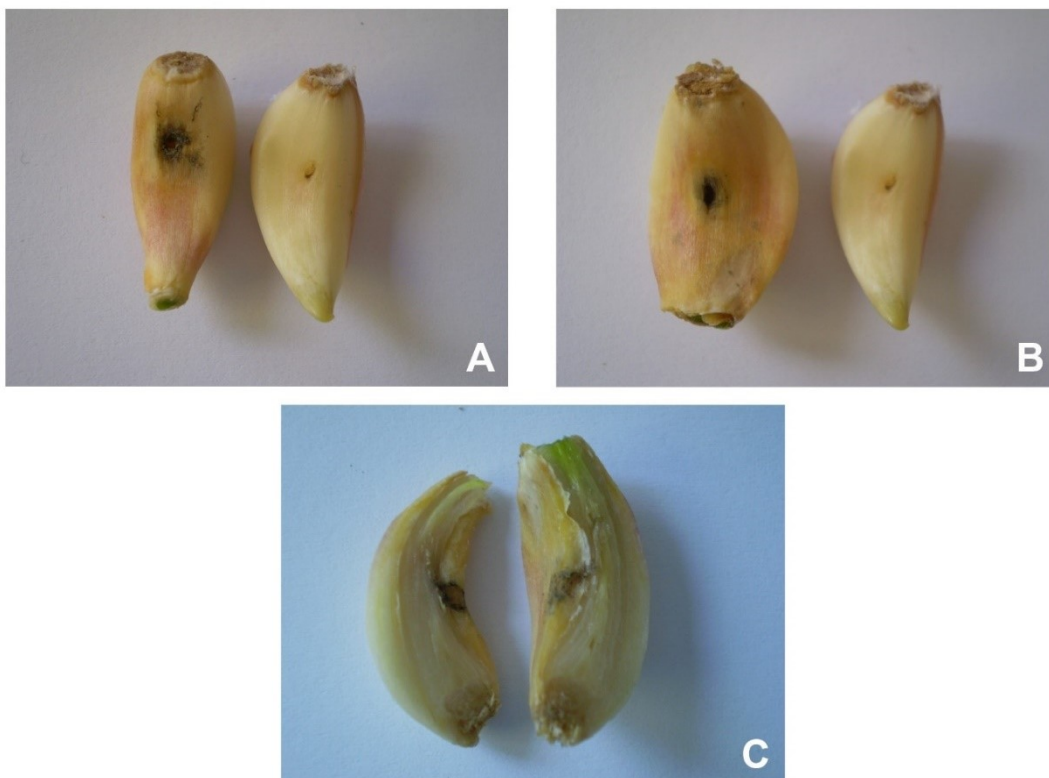
Slika 64. Prečnici nekroza izolovanih *Penicillium* i *Talaromyces* spp. na plodovima paradajza. Vrednosti označene istim slovom nisu statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$)

4.6.6. Patogenost izolata *P. allii*, *P. polonicum* i *P. italicum* na lukovicama belog luka

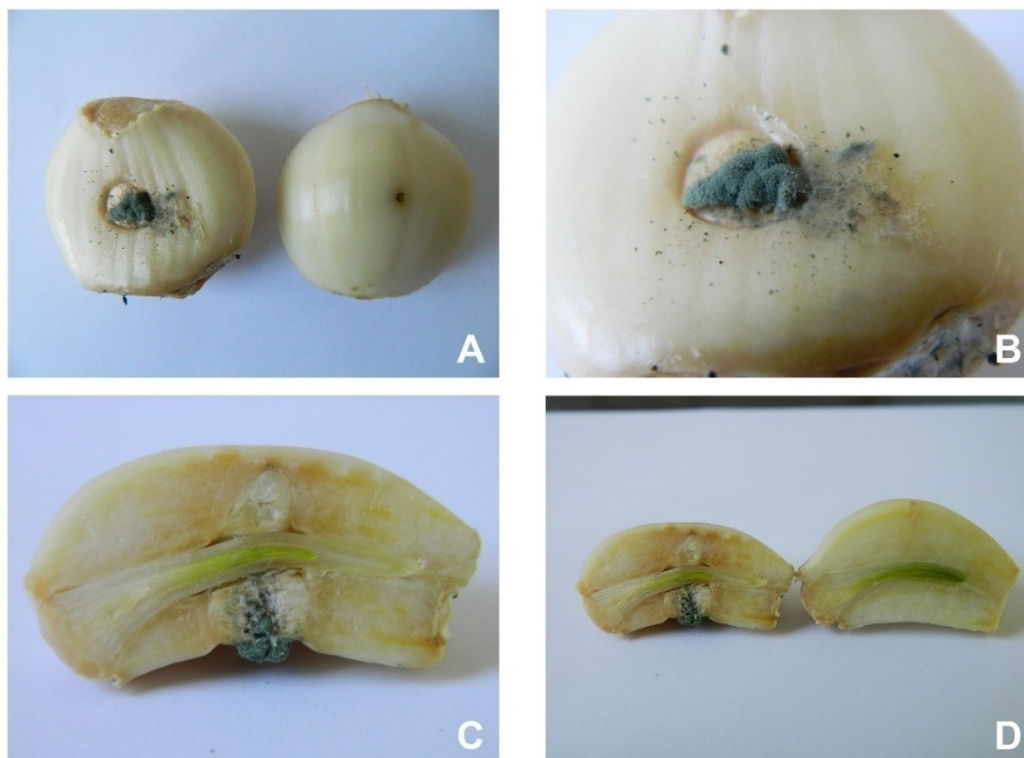
Tri vrste iz roda *Penicillium* su identifikovane kao prouzrokovaci plavih truleži na lukovicama belog luka: *P. allii*, *P. polonicum* i *P. italicum*. Svi odabrani izolati navedenih vrsta izazvali su nekrozu na veštački inokulisanim lukovicama. Zajednički simptomi koje su izazvali izolati tri pomenute vrste bili su ulegnuća na mestu inokulacije, smežuranje i naboranost tkiva i promena boje inficiranih čenova u svetlobraon (Slike 65-67). Postojale su i određene razlike u ispoljenim simptomima. Izolati *P. allii* su formirali slabo razvijenu miceliju bele boje na mestu inficiranja (Slika 65). Kod izolata *P. polonicum* i *P. italicum* micelija nije bila vidljiva, ali je uočena sporulacija slabijeg ili srednjeg intenziteta (Slike 66 i 67). Izolati *P. polonicum* su obrazovali spore plavozelene boje, dok su spore *P. italicum* bile tamnozelenene (Slike 66 i 67). Na uzdužnim presecima inficiranih čenova uočeno je da je nekroza zahvatila i njihov središnji deo, uz sporulaciju patogena unutar tkiva. U statističkoj analizi utvrđena je značajnost ($p < 0,05$), i testirani izolati su podeljeni u tri grupe prema virulentnosti - od najslabijih (*P. italicum*), preko srednje virulentnih-izolati *P. polonicum*, do najvirulentnijih koji su pripadali vrsti *P. allii*, sa prosečnim dijametrom lezija od 7,08 mm (Slika 68). Morfološki izgled reizolata dobijenih sa veštački inokulisanih lukovica bio je isti izgledu izvornih izolata. Na kontrolnim lukovicama nije došlo do razvoja simptoma bolesti.



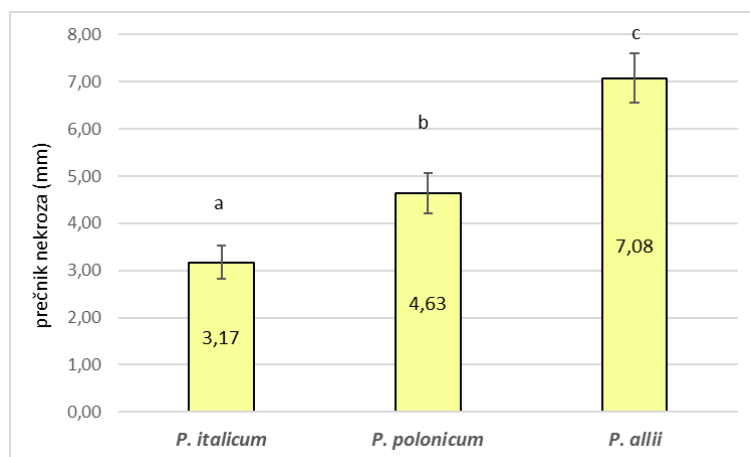
Slika 65. Simptomi truleži na lukovicama belog luka nakon veštačke inokulacije. **A-B.** Levo-čeno inokulisani sa *P. allii* (izolat SZ-21/1), desno-kontrole. **C-D.** Uzdužni preseki čenova.



Slika 66. Simptomi truleži na lukovicama belog luka nakon veštačke inokulacije. **A-B.** Levo-čenoivi inokulisani sa *P. italicum* (izolat SZ-16/2), desno-kontrole. **C.** Uzdužni presek čenova.



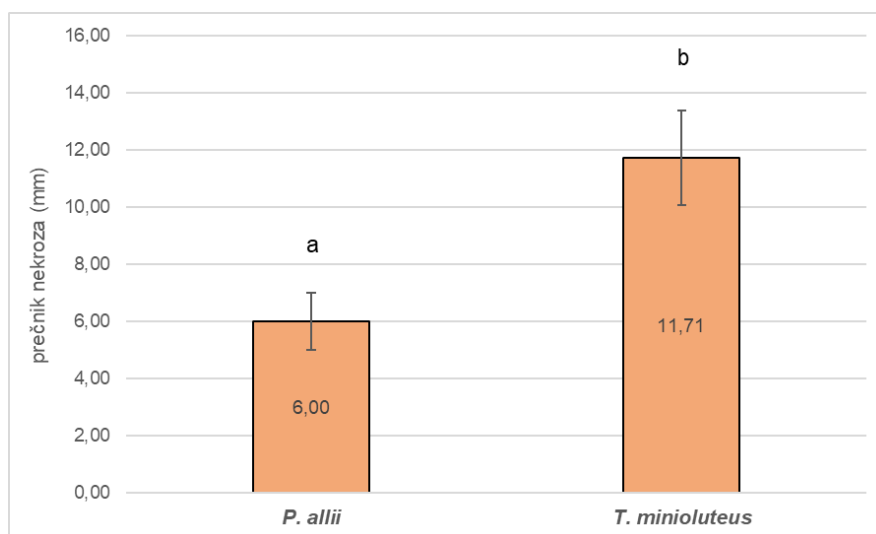
Slika 67. Simptomi truleži na lukovicama belog luka nakon veštačke inokulacije. **A.** Levo-čenoivi inokulisani sa *P. polonicum* (izolat SZ-16-2/2), desno-kontrole. **B.** Infekcija na veštački inokulisanom belom luku. **C-D.** Uzdužni presek čenova.



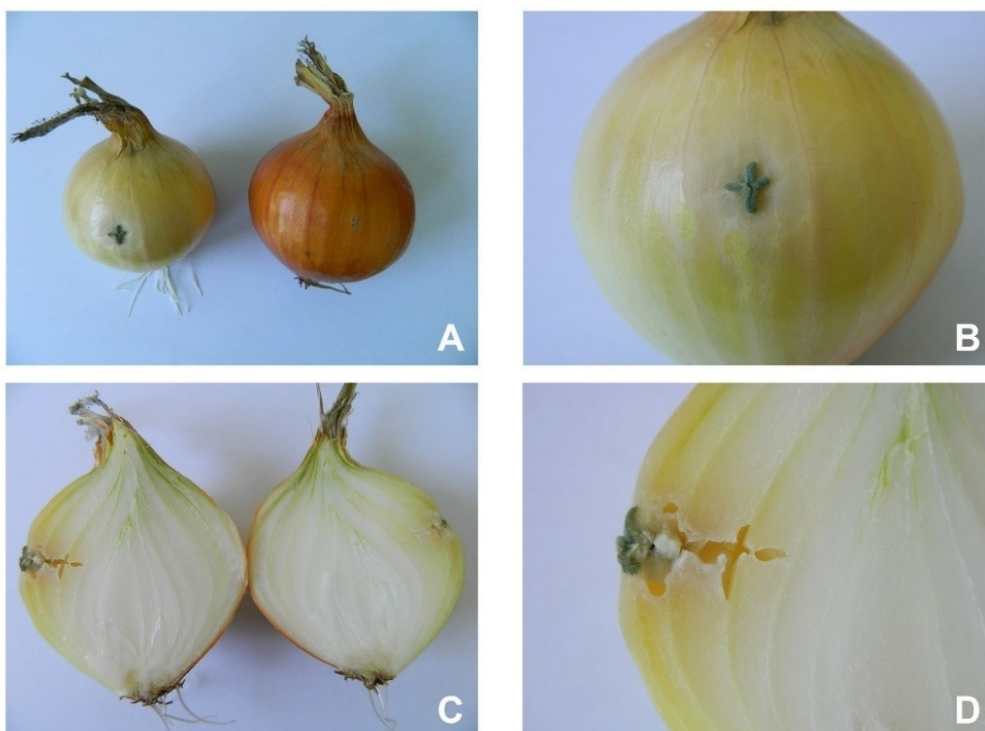
Slika 68. Prečnici nekroza izolovanih *Penicillium* spp. u testu patogenosti na lukovicama belog luka. Vrednosti označene različitim slovom su statistički značajno različite prema Tukijevom testu (Tukey test, $p < 0,05$).

4.6.7. Patogenost izolata *T. minioluteus* i *P. allii* na lukovicama crnog luka

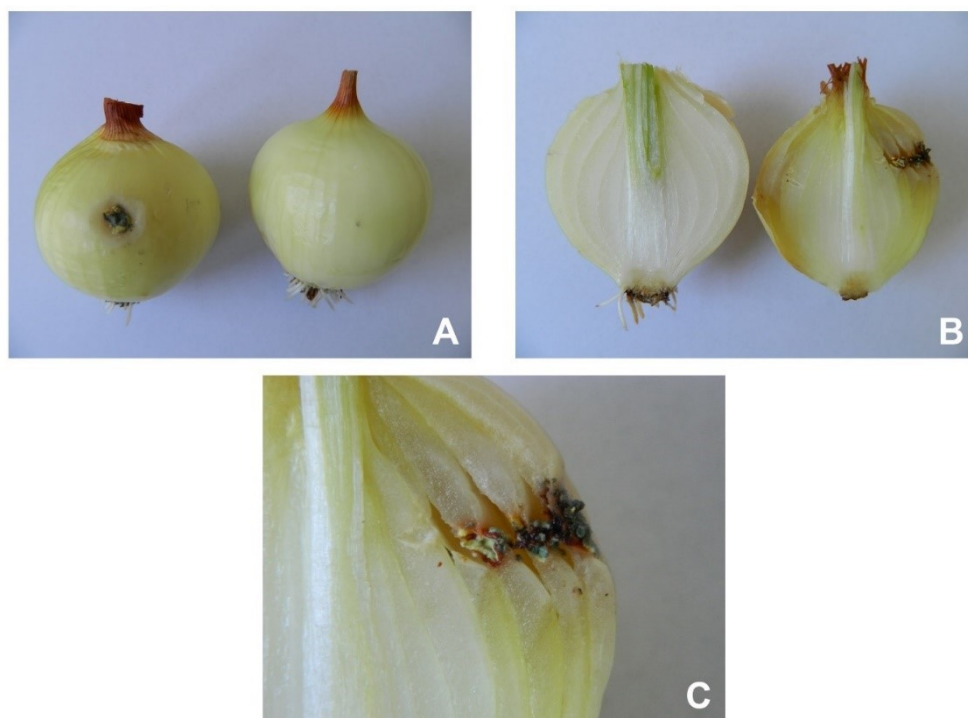
Sa lukovica crnog luka izolovani su *T. minioluteus* (izolati CLP/3, CLP/4, CLP/5, CLP/7) i *P. allii* (CLP/2). Izolati obe vrste su u testu provere patogenosti prouzrokovali obezbojenje i blago ulegnuće površine lukovica, praćeno razvojem spora zelene boje (Slike 70 i 71). U slučaju *T. minioluteus*, na mestu inokulacije razvila se micelija žute boje, karakteristična za ovu vrstu (Slika 71). Na vertikalnim presecima lukovica, zapaženo je razmekšavanje tkiva kod vrste *P. allii* (Slika 70D) ili sporulacija unutar inficirane površine kod *T. minioluteus* (Slika 70B-C). U poređenju srednjih vrednosti nekroza u t-testu utvrđena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između dve detektovane vrste. Izolati *T. minioluteus* bili su virulentniji u odnosu na izolat *P. allii* (Slika 69). Fenotipski izgled reizolata dobijenih sa veštački inokulisanih lukovica odgovarao je izgledu izvornih izolata. Na kontrolnim lukovicama nije došlo do razvoja simptoma bolesti.



Slika 69. Prečnici nekroza izolovanih *Penicillium* i *Talaromyces* spp. u testu patogenosti na lukovicama crnog luka. Vrednosti označene različitim slovom su statistički značajno različite prema Studentovom t-testu ($p < 0,05$).



Slika 70. Simptomi truleži na lukovicama crnog luka nakon veštačke inokulacije. **A.** Levo-lukovica inokulisana sa *P. allii* (izolat CLP/2), desno kontrola. **B.** Infekcija na veštački inokulisanom crnom luku. **C-D.** Uzdužni presek inficiranih lukovica.



Slika 71. Simptomi truleži na lukovicama crnog luka nakon veštačke inokulacije. **A.** Levo-lukovica inokulisana sa *T. minioluteus* (izolat CLP/4), desno kontrola. **B.** Uzdužni presek lukovica (levo-kontrola, desno-inficirana patogenom). **C.** Infekcija na veštački inokulisanom crnom luku.

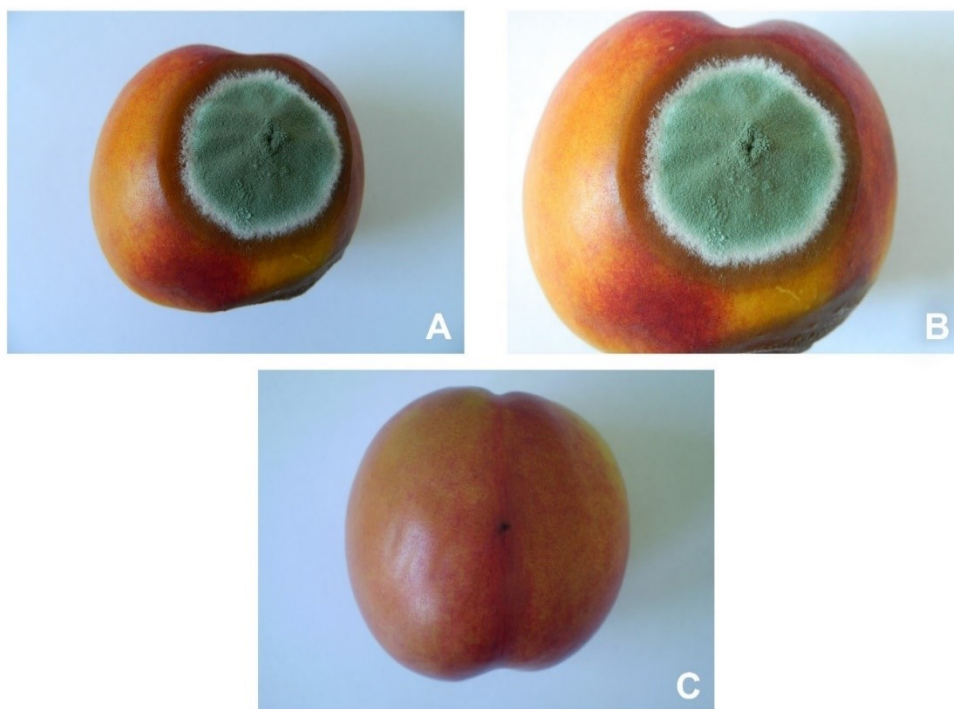
4.6.8. Patogenost izolata *P. expansum* na plodovima grejpfruta, jabuke, kivija, mandarine i nektarine i korenu šargarepe

Izolati *P. expansum* sa plodova grejpfruta, jabuke, kivija, mandarine i nektarine i korena šargarepe potvrđeni su kao patogeni na izvornim domaćinima. Ekspresija simptoma u testu provere patogenosti se razlikovala na različitim domaćinima. Virulentnost *P. expansum* se najintenzivnije ispoljila na plodovima jabuke i nektarine (Slike 72 i 73). Veliki deo plodova bio je zahvaćen nekrozom, uočeno je razmekšavanje, ulegnuće i naborano tkivo izmenjene, braon boje. U centru te površine je zabeleženo prisustvo bujne bele micelije sa masom zelenih spora (plodovi nektarine, Slika 73). Na plodovima jabuka je zabeležena slabija sporulacija patogena (Slika 72). Na plodovima kivija je oko mesta inokulacije zapaženo ulegnuće, razmekšavanje tkiva, razvoj bele micelije i produkcija zelenih spora (Slika 75). Na plodovima mandarine i korenu šargarepe su zapaženi slični simptomi kao na kiviju, uz obrazovanje bujnije micelije i intenzivnije sporulacije patogena (Slike 74 i 77). Simptomi uočeni na plodu grejpfruta su se razlikovali od ostalih po tome što je oko mesta inokulacije bila prisutna manja nekrotična, blago ulegnuta lezija, svetlobraon boje, bez vidljive sporulacije (Slika 76).

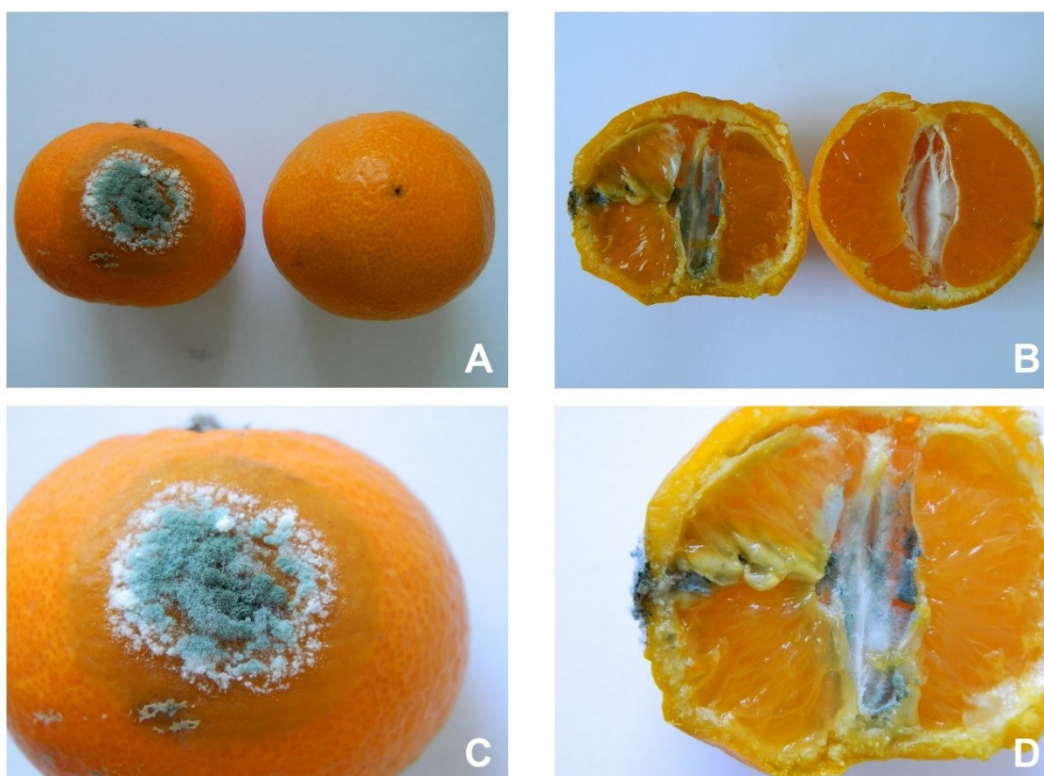
Destrukcija unutrašnjosti plodova i korena koji su izazvali izolati *P. expansum* najbolje je uočena na uzdužnim presecima. Ovo je bilo zabeleženo i kod onih plodova gde se na prvi pogled činilo da je nekroza samo površinskog tipa (npr. grejpfрут). U svim ogleđima provere patogenosti, izolati *P. expansum* su izazvali razmekšavanje i razlaganje egzokarpalnih i mezokarpalnih tkiva plodova, često zahvatajući i sam endokarp (Slike 72-76). Isto je uočeno i kod korena šargarepe, gde su infekcijom bili zahvaćeni periderm, floem i ksilem (Slika 77). Prečnik lezija je varirao od domaćina do domaćina (Slika 78), ali je u većini slučajeva zahvatao veliki deo površine ovih biljnih organa. S obzirom na raznorodnost domaćina sa kojih su dobijeni izolati *P. expansum*, u ovom ogleđu nije rađena statistička analiza poređenja prosečnih prečnika nekroza. Morfološki izgled reizolata dobijenih sa veštački inokulisanih plodova i korenova bio je isti izgledu izvornih izolata. Na kontrolnim plodovima i korenovima nije došlo do razvoja simptoma bolesti.



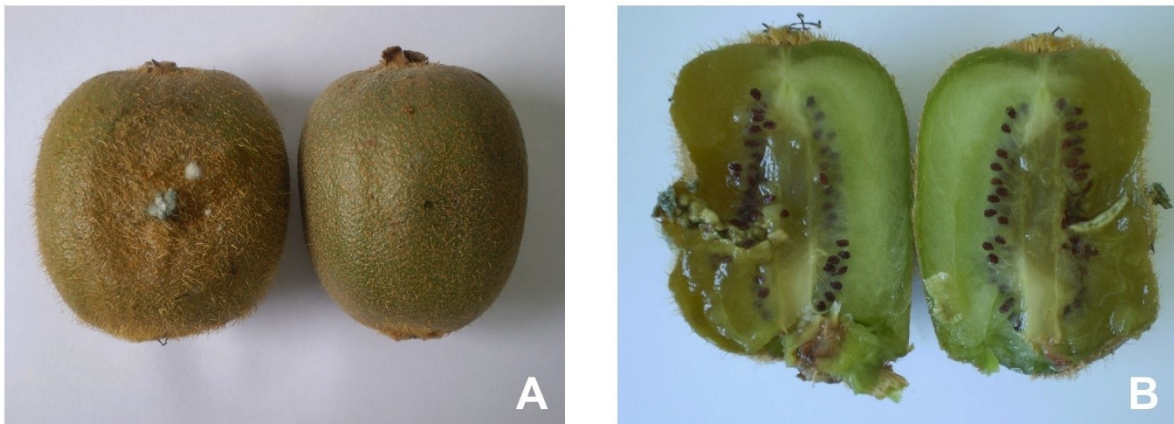
Slika 72. Simptomi truleži na plodovima jabuke nakon veštačke inokulacije. **A.** Levo-plod inokulisan sa *P. expansum* (izolat JP/4), desno-kontrola. **B.** Infekcija na veštački inokulisanom plodu. **C-D.** Uzdužni presek inficiranog ploda.



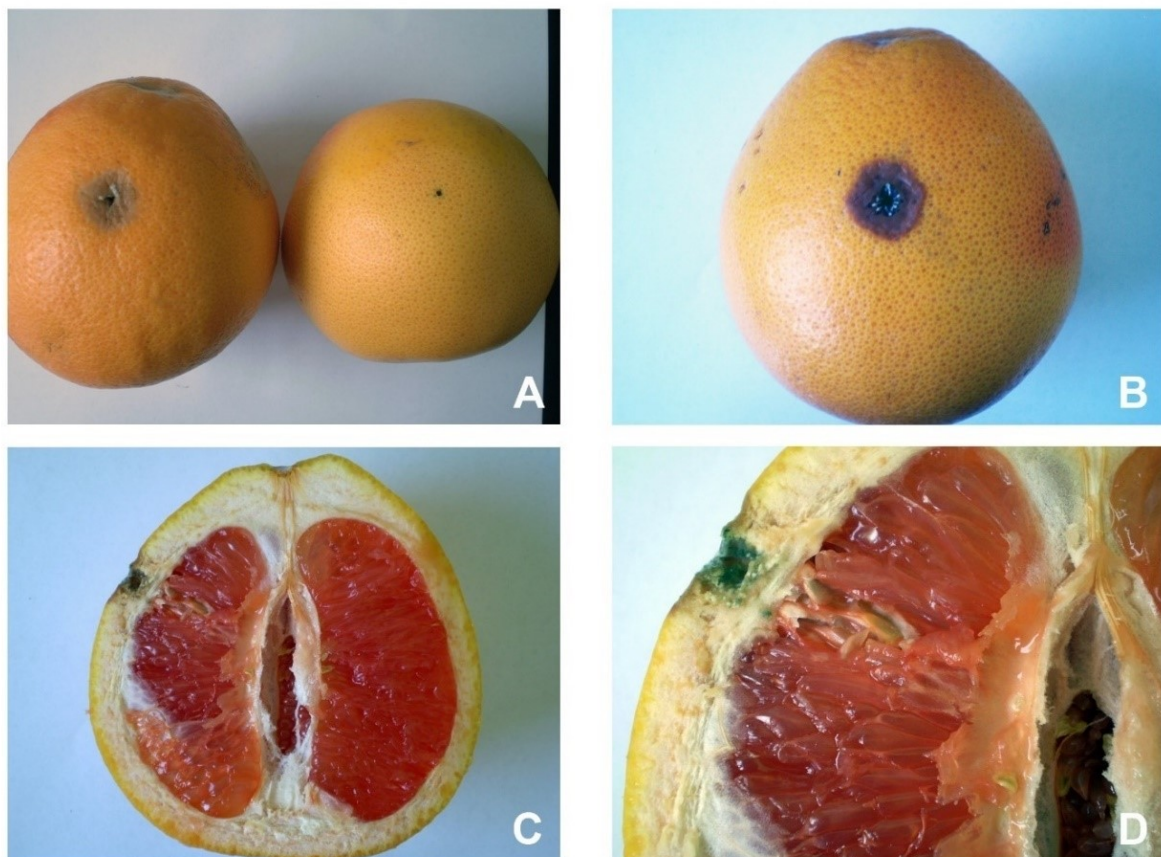
Slika 73. Simptomi truleži na plodovima nektarine nakon veštačke inokulacije.
A-B. Plod inokulisan sa *P. expansum* (izolat NeP/1). **C.** Kontrola.



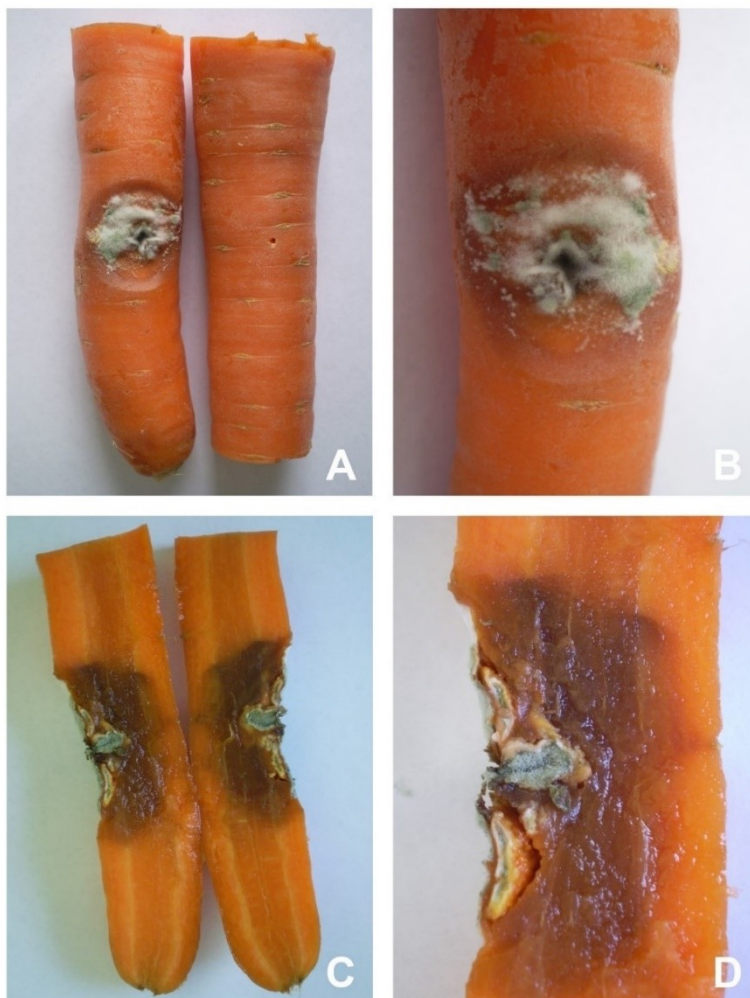
Slika 74. Simptomi truleži na plodovima mandarine nakon veštačke inokulacije.
A. Levo-plod inokulisan sa *P. expansum* (izolat MP/4), desno-kontrola. **B.** Uzdužni preseci inokulisanih plodova. **C.** Infekcija na veštački inokulisanom plodu. **D.** Uzdužni presek veštački inokulisanog ploda.



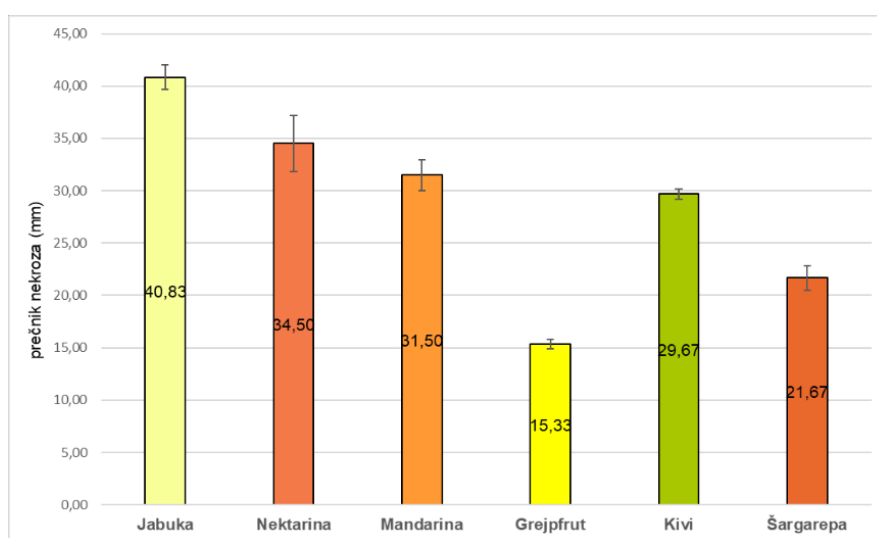
Slika 75. Simptomi truleži na plodovima kivija nakon veštačke inokulacije.
A. Levo-plod inokulisan sa *P. expansum* (izolat KiP/1), desno-kontrola. **B.** Uzdužni presek inficiranog ploda.



Slika 76. Simptomi truleži na plodovima grejpfruta nakon veštačke inokulacije.
A. Levo-plod inokulisan sa *P. expansum* (izolat GPP/1), desno-kontrola. **B.** Plod inokulisan patogenom. **C.** Uzdužni presek veštački inokulisanog ploda.



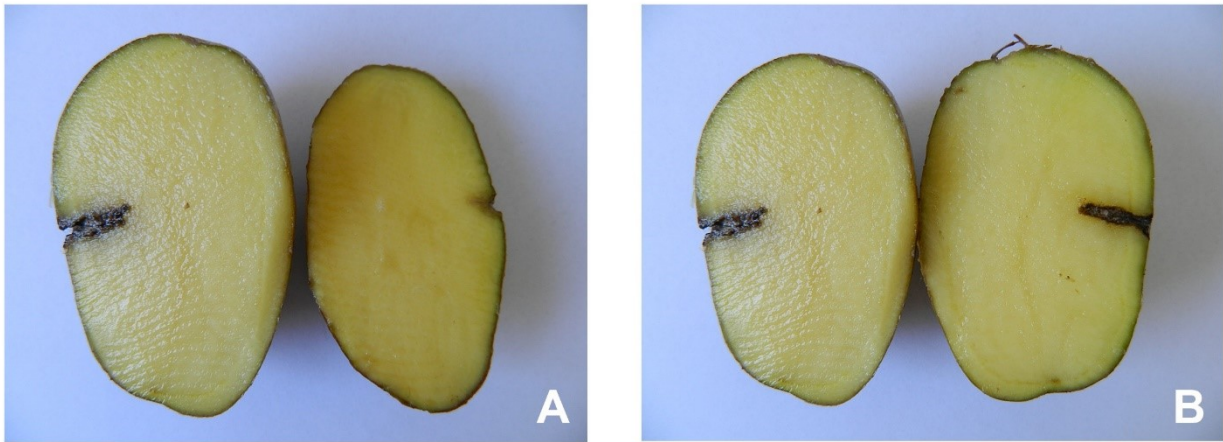
Slika 77. Simptomi truleži na korenu šargarepe nakon veštačke inokulacije.
A. Levo-koren inokulisan sa *P. expansum* (izolat ŠaP/1), desno-kontrola. **B.** Infekcija na veštački inokulisanom korenu šargarepe. **C-D.** Uzdužni presek inficiranog korena.



Slika 78. Prečnici nekroza izolata *P. expansum* u testu patogenosti na plodovima jabuke, nektarine, mandarine grejpfruta, kivija i korena šargarepe.

4.6.9. Patogenost izolata *T. minioluteus* na krtolama krompira

U testovima provere patogenosti utvrđeno je da *T. minioluteus* nije patogen na ovom biljnom domaćinu (Slika 79). Sitne nekrotične lezije koja su uočene na veštački inokulisanim krtolama nisu bile rezultat infekcije, već posledica povrede ploda sterilnom iglom u toku inokulacije. Kohovi postulati nisu potvrđeni, jer se u ogledu reizolacije na MEA podlozi nisu razvile kolonije gljive *T. minioluteus*.



Slika 79. Simptomi na krtolama krompira nakon veštačke inokulacije (uzdužni preseki). **A.** Levo-krtola inficirana sa *T. minioluteus* (izolat KroP/1), desno-kontrola. **B.** Presek krtole inficirane patogenom.

5. DISKUSIJA

5.1. Simptomi, diverzitet i distribucija izolovanih vrsta *Penicillium* i *Talaromyces*

U toku višegodišnjih istraživanja (2015-2020.) na sakupljenim uskladištenim plodovima, krtolama, korenovima i lukovicama u Srbiji zabeleženi su simptomi plavih i zelenih truleži. Sa prikupljenih uzoraka identifikovano je ukupno 9 vrsta, 7 pripadnika roda *Penicillium*: *P. allii*, *P. crustosum*, *P. digitatum*, *P. expansum*, *P. italicum*, *P. olsonii*, *P. polonicum*, i 2 pripadnika roda *Talaromyces*, *T. rugulosus* i *T. minioluteus*. Na sakupljenim uzrocima uočeni su sledeći simptomi: 1) svetle, sitne, blago ulegnute pege, 2) veće nekrotične pege braon boje, 3) biljni organi prekriveni masom spora plave ili zelene boje. Simptomi zabeleženi na prirodno inficiranom voću i povrću u ovoj studiji odgovaraju opisima simptoma koje vrste ova dva roda prouzrokuju (Valdez i dr. 2006; Chatterton, Wylie i Punja, 2012; Vico i dr. 2014b; Wang i dr., 2015; Duduk i dr. 2017). Na osnovu uočenih simptoma nije bilo moguće identifikovati prouzrokovala plavih i zelenih truleži do nivoa vrste. Poznavanje biljke domaćina sa kojih je patogena gljiva izolovana nekada može pomoći u preliminarnoj identifikaciji, jer postoji preferenca nekih vrsta *Penicillium* i određenih biljnih domaćina (*eng. fungus-host association*). Prema literaturnim podacima, *P. italicum* i *P. digitatum* se najčešće sreću na plodovima citrusa, *P. expansum*, *P. crustosum*, *P. solitum* na plodovima jabučastog voća, a *P. radicola*, *P. albocoremium*, *P. allii* na lukovima (Barkai-Golan 2001; Frisvad i Samson 2004). Najveći broj izolata *Penicillium* spp. i *Talaromyces* spp. u ovoj studiji izolovan je sa voća (66%). Naime, većina fitopatogenih gljiva bolje podnosi nižu pH plodova voća, te češće inficiraju i prouzrokuju bolesti na njima, za razliku od bakterija koje češće izazivaju bolesti na povrću (Snowdon 1990; Moss 2008).

Vrsta koja je izolovana sa najvećeg broja domaćina (11 od 14 prikupljenih) u ovim istraživanjima je *P. expansum*. Prema literaturnim podacima u pitanju je polifagna vrsta kosmopolitkog rasprostranjenja. U bazi istraživačke službe američkog Ministarstva poljoprivrede, upit „*Penicillium expansum*“ generiše čak 252 rezultata koji se odnose na biljne domaćine: jabuke, kruške, breskve, maline, jagode, višnje, japanske (kaki) jabuke, kivi, mango, marakuju, avokado, paradajz, grožđe, crne masline, šargarepu, tikvice, crni luk, kupus, prokelj, grejpfrut, orah, šećernu repu, kukuruz, pšenicu, pirinač, ječam, soju, pasulj, kikiriki, proizvode od žitarica, pekan orahe i pistače, kao i skladišta u kojima se čuvaju ovi poljoprivredni proizvodi (Farr i Rossman, 2022). Pored navedenih ova vrsta naseljava i druge, vrlo raznovrsne biljne domaćine, supstrate i sredine poput meda, mlevene slatke paprike, margarina, sira, mesa i mesnih proizvoda, osušene ribe, voćnog jogurta, želiranog voćnog deserta, sosa i soka od jabuke, drvenastih vrsta (*Picea* sp., *Tsuga* sp., *Pinus sylvestris*, *Quercus petraea*, *Camellia oleifera*), piljevine, vode, slanog zemljišta, vazduha u bibliotekama (Kivanç i Akgül 1990; Pitt i Hocking 2009; Dugan i Roberts 1994; Kubátová 2000; Seifert i Frisvad 2000; Skouboe i dr. 2000; Andersen, Smedsgaard, i Frisvad 2004; Amiri i Bompeix 2005; Lugauskas, Repečkienė, i Henrikas 2005; Aziz, Mattar, i Mahrous 2006; Aran i Eke 1987; Hujsová i dr. 2010; Samson i dr. 2010; Kačániová i dr. 2012; Leite Júnior i dr. 2012; Wang i dr. 2015; Melo González i dr. 2017; Ghuffar i dr. 2018; Yu i dr. 2018; Heo i dr. 2019). Thom (1910) ističe da je ova vrsta čest kontaminant kultura drugih vrsta gljiva. Podaci iz literature navode da je *P. expansum* prvi put u Srbiji identifikovan pre 50 godina kao izazivač plave truleži jabuke (Perišić 1972). Nakon toga, ova vrsta je na području naše zemlje ponovo detektovana u skladištima na plodovima jabuke (Babović i dr. 1979), na kimu (kao deo mikopopulacije začina) (Dimić i dr. 2008), u seckanim salatama spremnim za jelo (Kocić-Tanackov i dr. 2010), i u različitim vrstama brašna (Plavšić i dr. 2015). Osim navedenih radova, *P. expansum* je u Srbiji ponovo potvrđen kao patogen plodova jabuka (Vico i dr., 2014b), i po prvi put nedavno potvrđen kao prouzrokovala plave truleži lukovica crnog luka (Duduk i dr. 2017).

Sledeća gljiva po zastupljenosti u ovoj studiji je *T. minioluteus* (6 različitih domaćina). U svetu je ova vrsta identifikovana i na: bobicama grožđa (Sage, Garon, i Seigle-Murandi 2004; Behr, Legay, i Evers 2013; Khodaei i dr. 2016), plodovima jabuke (Quintanilla 1985; Viñas i dr. 1993), kukuruzu (Camiletti i dr. 2014), plodovima nara (Labuda i dr. 2004; Palou, Guardado, i Montesinos-Herrero 2010; Palou i dr. 2013) i na *Tulipa* sp. (Van Reenen-Hoekstra i dr. 1990). *T. minioluteus* je takođe izolovan sa raznorodnih supstrata i iz različitih sredina: suvo grožđe (Khodaei i dr. 2016), ukišljeni luk (Williams 1990), vazduh (Ramírez i Martínez 1981; Alananbeh i dr. 2017), zemljište (Okada i dr. 1998; Lee i dr. 2002; Nesci i dr. 2006; Hujslová i dr. 2010), oborena šumska stabla, drvena građa i grančice belog bora (Kubátová 2000; Seifert i Frisvad 2000; Sanz-Ros i dr. 2015), kućna prašina (Visagie i dr. 2014a), vreće od jute za čuvanje šećera (Van Reenen-Hoekstra i dr. 1990), hrana za živinu (Magnoli i dr. 1998), mahovine sa Antarktika (Tosi i dr. 2002), morski sunđer i dr. (Ngokpol i dr. 2015). Ova vrsta je u našem istraživanju izolovana sa plodova dunje, kruške, paradajza, pomorandže, sa lukovica crnog luka i krtola krompira, što su, prema dostupnoj literaturi, prvi nalazi u svetu (Stošić i dr. 2020, 2021).

P. polonicum je sledeća vrsta po značaju u ovom istraživanju na osnovu rasprostranjenosti na biljkama domaćinima. Izolovana je sa limuna, belog luka i paradajza i sva tri nalaza su prve detekcije na tim domaćinima u Srbiji. *P. polonicum* je u našoj zemlji ranije izolovan samo sa lukovica crnog luka (Duduk, Vasić, i Vico 2014). Ova vrsta je utvrđena i na sledećim biljnim domaćinima: plodovima jabuke, kruške i paradajza (Chatterton, Wylie, i Punja 2012; Basson, Meitz-Hopkins, i Lennox 2019; Khokhar i dr. 2019; Bradshaw i dr. 2022), plodovima citrusnog voća (Chen K. i dr. 2017; El-Dawy i dr. 2021), lukovicama belog i crnog luka (Duduk, Vasić, i Vico 2014; Dugan i dr. 2014; Çakır i Maden 2015; Bashir i dr. 2017), grožđu (Santini i dr. 2014; Felšöciová i dr. 2015), jagodama (Jensen i dr. 2013), krtolama jama (kineskog krompira, *Dioscorea batatas*) i jerusalimske artičoke (čičoke, *Helianthus tuberosus*) (Kim, Hwang, i Yu 2008; Al-Askar i dr. 2021), korenu šećerne repe i rizomu *Polygonatum cyrtonema* (Strausbaugh 2018; Chen L. i dr. 2017). Ostali biljni domaćini i biljni organi od značaja sa kojih je izolovan *P. polonicum* obuhvataju plodove indijske smokve (*Opuntia ficus-indica*), krtole ljubičastog jama (*Dioscorea alata*), koren sladića, semena *Lagenaria siceraria*, semena za ptice (Seifert i Louis-Seize 2000; Chen i dr. 2011; Kim i dr. 2012; Faedda i dr. 2015; Soni i Raj 2022). Ova vrsta je otkrivena i kao deo mikrobiote skladišnih prostorija plodova ličija (Johnston 2008). *P. polonicum* je detektovan i na žitaricama i njihovim proizvodima (Lavermicocca, Valerio, i Visconti 2003; Njobeh i dr. 2009; dos Santos i dr. 2016; Tournas i Niazi 2018; Li i dr. 2020), na biljkama koje se koriste u tradicionalnoj kineskoj medicini (Chen i dr. 2015; Elsunni i Yang 2018; Su i dr. 2018), suhomesnatim proizvodima, ovčijem siru, maslinama i smrznutim pilećim medaljonima (Núñez i dr. 2000; Sonjak i dr. 2011; Wigmann i dr. 2015; Ozturkoglu Budak i dr. 2016; Bavaro i dr. 2017; Khalil, Hashem, i Abdelaziz 2019). *P. polonicum* je takođe izolovan kao endofit ginka i biljke *Camptotheca acuminata* (Wen i dr. 2020; Abdel-Fatah i dr. 2021), sa grančica belog bora (Sanz-Ros i dr. 2015), iz fecesa biljojeda (Su i dr. 2021), sa tela insekta (Lamsal i dr. 2013), mumificiranih ljudskih ostataka (Šimonovičová i dr. 2015), morskog sunđera (El-Gendy i dr. 2018), korejskog mejua (Kim 2011), iz mešane stočne hrane (Skouboe i dr. 2000), podzemnih i nadzemnih voda, plimne zone morskih obala i sedimenata mangrova vegetacije (Niknejad i dr. 2013; Wen i dr. 2017; Park i dr. 2019; Liu i dr. 2020). Na osnovu navedenog može se zaključiti da je reč o vrsti sa širokom distribucijom, sposobnom da naseljava raznovrsne supstrate.

P. allii je u našem istraživanju izolovan sa lukovica crnog i belog luka, pri čemu ovi rezultati predstavljaju prve nalaze u Srbiji. Pomenuta vrsta je prvobitno i izolovana sa belog luka (Vincent i Pitt 1989). *P. allii* je identifikovan i potvrđen kao prouzročivač truleži lukovica u više različitih istraživanja (Overy i dr. 2005; Valdez i dr. 2006; Dugan i dr. 2014; Ahn i dr. 2016; Gálvez i Palmero 2021). Frisvad i Samson (2004) navode da se, pored lukova, *P. allii* može naći i na pirinču. Osim ovih domaćina, *P. allii* je do sada utvrđen i na kupusu i plodovima jabuke u Danskoj (Svendsen i Frisvad 1994), i kao deo različitih mikrobiota - u skladištima jabuka (Smiri i dr. 2021),

zemljištu (Hujslová i dr. 2010; Grantina-Ievina i dr. 2011; Chamekh i dr. 2019), zemljištu u zoni plime (Park i dr. 2019), u hladnim staništima Antarktika (Bradner i dr. 2003). Otkriven je i kao deo mikrobioma gastrointestinalnog sistema (Gouba, Raoult, i Drancourt 2013).

Vrsta *P. italicum* u ovom istraživanju izolovana je sa dva domaćina – plodova kruške i lukovica belog luka i u pitanju su prvi nalazi ove vrste u Srbiji. Literaturni podaci navode da se ovaj pripadnik roda *Penicillium* najčešće sreće na plodovima citrusnog voća, i zajedno sa *P. digitatum* prouzrokuje plavu, odnosno zelenu trulež (Smith i dr. 1988; Snowdon 1990; Frisvad i Samson 2004; Palou 2014). Pretraga baze Poljoprivredne istraživačke službe Ministarstva poljoprivrede SAD-a za ovu vrstu daje 184 rezultata, među kojima su agrumi, pšenica, paradajz, vinova loza, batat, vrste iz roda banana, i vrste iz rodova *Prunus* i *Pyrus* (Farr i Rossman, 2022). U okviru opsežnog istraživanja vrsta roda *Penicillium* na uskladištenim plodovima voća i povrća u Izraelu, *P. italicum* je utvrđen i na plodu paradajza (Barkai-Golan 1974). U listu domaćina sa kojih je ova vrsta izolovana ubrajaju se rotkvica i crni biber (Svendsen i Frisvad 1994). Pitt i Hocking (2009) navode avokado, paradajz, sapodilu (vrsta voća), pirinač, meso, mesne proizvode, sir i voćne sokove kao supstrate gde je takođe moguće naći *P. italicum*, a izolovan je kao endofita iz *Camellia oleifera* (Yu i dr. 2018), i u okviru skladišta plodova ličija (Johnston 2008).

Sa plodova kruške i limunova u ovoj studiji izolovan je *T. rugulosus*. Pitt i Hocking (2009) navode da je Čarls Tom još 1910. godine izolovao ovu gljivu sa trulih krtola krompira i opisao je kao novu vrstu pod imenom *Penicillium rugulosum*. Osim navedenog domaćina, *T. rugulosus* je prethodno izolovan sa plodova jabuka (Barkai-Golan 1974; Vismar i dr. 1996; Amiri i Bompeix 2005; Radenkova i Juhnević-Radenkova 2018; Basson, Meitz-Hopkins, i Lennox 2019), plodova trešnje (Dugan i Roberts 1994), japanske dunje (Norin i Rumpunen 2003), korena šećerne repe (Strausbaugh 2018). Samson i dr. (2010) pominju da je *T. rugulosus* čest stanovnik žitarica u umerenim, i (sup)tropskim regionima, kao i da je uobičajen u zemljištu i u vazduhu unutrašnjih prostorija. Ova vrsta je izolovana sa brašna, suvog i obrađenog mesa, sira, pekan oraha (Williams 1990; Pitt i Hocking 2009), različitih semena (Aziz, Mattar, i Mahrous 2006), raznih vrsta četinarskog drveća (Seifert i Frisvad 2000), iz slatina i kiselih zemljišta (Hujslová i dr. 2010). U Srbiji, *T. rugulosus* je do sada bio izolovan kao deo mikopopulacije začina (Dimić i dr. 2008), kao kontaminant mešavina svežih, seckanih salata spremnih za jelo (Kocić-Tanackov i dr. 2010) i više vrsta brašna (Plavšić i dr. 2015).

P. crustosum je u ovom istraživanju izolovan samo sa plodova kruške. Ova vrsta je prethodno izolovana sa jabučastih plodova i iz skladišta voća (Barkai-Golan 1974; Sanderson i Spotts 1995; Kim i dr. 2002; Yun i dr. 2006; Louw i Korsten 2014; Rharmitt i dr. 2016; Basson, Meitz-Hopkins, i Lennox 2019). Pored ovih domaćina i supstrata, *P. crustosum* je izolovan i sa grožđa (Benkhemmar i dr. 1993; Santini i dr. 2014; Felšöciová i dr. 2015; Ghuffar i dr. 2018), plodova mandarine (Garcha i Singh 1976), plodova pomorandže (El-Dawy i dr. 2021), plodova trešnje i maline (López, Sangorrín, i Pildain 2016), kukuruza i graška (Svendsen i Frisvad 1994), različitih vrsta semena, orašastih plodova, žitarica, brašna i proizvoda od njih (Skouboe i dr. 2000; Kim 2011; Kim, Lee, i Choi 2013; Tournas, Niazi, i Kohn 2015; Njobeh i dr. 2009; Salamon i dr. 2020), maslina i namaza od maslina (Baffi i dr. 2012; Bavaro i dr. 2017), kestena (Overly i dr. 2003), sireva (Skouboe i dr. 2000; Ozturkoglu Budak i dr. 2016), smrznutih pilećih medaljona (Wigmann i dr. 2015), mlevene slatke paprike (Melo González i dr. 2017), meda (Kačanić i dr. 2012), korena sladića (Chen i dr. 2011), lukovica žutog narcisa (Dugan i dr. 2017). Nađen je i na proizvodima od drveta (Seifert i Frisvad 2000), mumificiranim ljudskim ostacima (Šimonovičová i dr. 2015), u lancu proizvodnje/izvoza ličija (Johnston 2008), zemljištu i plimnom pojasu (Hujslová i dr. 2010; Grantina-Ievina i dr. 2011; Park i dr. 2019), sa makroalgi (Park i dr. 2016). Sonjak i dr. (2005) sprovedli su istraživanje sa velikim brojem izolata sa ciljem poređenja sekundarnih metabolita *P. crustosum* iz različitih ekoloških niša. U toj studiji naveden je veliki broj raznih supstrata koja ova vrsta može da naseljava: plodovi ugli voća (jamajčanski tangelo), plod mangostina, limun, pekan orah, pirinač, zrna zelene kafe, buđavi luk, majčina dušica, sir, čajna kobasica, vazduh u

fabrici ražanog hleba, mešana stočna hrana, otpadni kompost, pluta, drveni kolci, kožni kaiš, vazduh unutrašnjih prostorija, pećina i pećinski vazduh, slano močvarno i šumsko zemljište, voda i led iz glečera, morska voda. Dakle, u pitanju je otporna, polifagna vrsta, sposobna da opstaje i prehranjuje se na raznim supstratima. U Srbiji je ova vrsta do sada nađena na plodovima jabuke i nekatrine (Vico i dr. 2014a; Duduk i dr. 2021).

P. digitatum je vrsta koja je u našem ispitivanju izolovana samo sa ploda limuna. Primarni domaćini ove vrste su, kao i u slučaju *P. italicum*, plodovi citrusnog voća (Thom 1910). U bazi Poljoprivredne istraživačke službe Ministarstva poljoprivrede SAD-a za vrstu *P. digitatum* se navodi 215 biljaka kao mogućih domaćina, od kojih su nabrojnije biljke domaćini koje pripadaju agrumima (Farr i Rossman, 2022). Pored njih, *P. digitatum* je detektovan i na kafi, kukuruzu, kruškama, dinji, vrstama iz rodova *Iris* i *Musa* (Farr i Rossman, 2022). Ova vrsta je zabeležena i na kukuruzu (Mislivec i Tuite 1970), plodovima breskve (Zhang i dr. 2019), crnim maslinama (Heperkan i dr. 2006), *Camellia oleifera* (Yu i dr. 2018), vinovoj lozi (Jayawardena i dr. 2018), orašastim plodovima (Heperkan, Aran, i Ayfer 1994; Lugauskas, Raudonienė, i Šveistyte 2005), mirođiji (Lugauskas, Repečkienė, i Stakėnienė 2004), u skladištima jabuka (Amiri i Bompeix 2005), zemljištu (Svendsen i Frisvad 1994), plimnoj zoni morske obale (Park i dr. 2019). Pitt i Hocking (2009) pominju da je *P. digitatum* izolovan i sa pirinča, mesa, kola oraha, zrna soje i sirka. Ekološki posmatrano, u pitanju je vrsta sa širokim rasprostranjenjem, sa preferencijom ka toplijim klimatima. U Srbiji ova vrsta do sada nije detektovana, te rezultat ove studije predstavlja prvi nalaz.

Sa plodova paradajza u ovom istraživanju izolovana je još jedna vrsta roda *Penicillium* – *P. olsonii*. Na ovom domaćinu detektovana je ranije u svetu (Andersen i Frisvad 2004; Frisvad i Samson 2004; Chatterton, Wylie, i Punja 2012; Punja i dr. 2016; Anjum i dr. 2018). Kada su u pitanju drugi biljni domaćini, navode se grožđe (Serra i Peterson 2007; Zou i dr. 2021), kafa (Vega i dr. 2006; Vega i dr. 2008) i konoplja (Punja 2018; Punja i dr. 2019). Literaturni podaci za ovu vrstu navode da se javlja i na jagodama, pasulju i drugom povrću, kao i da je uobičajeni stanovnik tropskog i tresetnog zemljišta, staklenika, i vazduha u unutrašnjosti prostorija (Rodolfi, Lorenzi, i Picco 2003; Oliveri i dr. 2007; Reboux i dr. 2009; Samson i dr. 2010; Jensen i dr. 2013; Ahn i dr. 2019). *P. olsonii* je nađen je na hrani, poput suvih kobasica i sira (Sonjak i dr. 2011; Ozturkoglu Budak i dr. 2016). Ova vrsta izolovana je i sa žitarica, korena jele (*Picea abies*), tela insekta, plimne zone morske obale (Svendsen i Frisvad 1994; Peterson 2004; Park i dr. 2019). Nalaz iz našeg istraživanja je prvi za Srbiju, a takođe predstavlja prvu detekciju ove patogene vrste na plodu paradajza u Evropi (Živković, Ristić, i Stošić 2021).

5.2. Morfološke odlike izolata vrsta *Penicillium/Talaromyces* i njihova fenotipska varijabilnost

Izolati *Penicillium/Talaromyces* sa različitih biljaka domaćina u ovom istraživanju su na osnovu razlika u morfološkim karakteristikama bili podeljeni u dve grupe, a potom u jedanaest podgrupa. Karakteristike dveju morfogrupa odgovarale su opisima rodova *Penicillium* i *Talaromyces*. Izolati prve morfološke podgrupe identifikovani su kao *P. expansum*, dok su izolati podgrupa 2 i 3 prema svojim morfološkim karakteristikama determinisani samo do nivoa roda (*Penicillium* sp.). Gljive iz ostalih podgrupa su na osnovu karakteristika u kulturi bile preliminarno identifikovane kao: *P. crustosum* (podgrupa 4), *P. italicum* (podgrupa 5), *P. allii* (podgrupa 6), *P. polonicum* (podgrupa 7), *P. digitatum* (podgrupa 8), *P. olsonii* (podgrupa 9), *T. minioluteus* (podgrupa 10), *T. rugulosus* (podgrupa 11).

Makromorfološke osobine vrsta *Penicillium/Talaromyces* u ovoj studiji su odgovarale ranijim opisima vrsta na testiranim podlogama, osim za izolate *P. expansum* (Pitt 1973, 1988; Frisvad i Samson 2004; Pitt i Hocking 2009; Samson i dr. 2010; Visagie 2012; Yilmaz i dr. 2014). Naime, izolati ove vrste su bili inicijalno podeljeni u tri morfološke podgrupe (podgrupe 1, 2 i 3), pri čemu je jedino prva podgrupa identifikovana do nivoa vrste na osnovu morfoloških

karakteristika. Definitivna determinacija dobijenih izolata do nivoa vrste urađena je na osnovu molekularne identifikacije i analize filogenetskih odnosa.

Mikromorfološke odlike vrsta *Penicillium/Talaromyces* u našem istraživanju nisu odstupale od podataka u literaturi. Tip grananja konidiofora, oblik fialida i konidija kao i njihove dimenzije i ornamentacija bili su istovetni ranijim opisima (Pitt 1973, 1988; Frisvad i Samson 2004; Pitt i Hocking 2009; Samson i dr. 2010; Visagie 2012; Yilmaz i dr. 2014).

Varijabilnost fenotipskih odlika između različitih izolata koji pripadaju istoj vrsti roda *Penicillium* je više puta dokumentovana u ranijim istraživanjima drugih autora i predstavlja otežavajući faktor u tačnoj identifikaciji vrsta ovog roda. Prilikom identifikacije i karakterizacije patogenih izolata *P. expansum* sa plodova jabuke u Urugvaju, zabeležena je visoka varijabilnost u teksturi i boji kolonija sa naličja, i stepenu konidiogeneze (Pianzola, Moscatelli, i Vero 2004). U istraživanju Johnston (2008) u Južnoj Africi, izolati *P. expansum* poreklom sa ploda ličija bili su podeljeni u tri morfološke grupe pre konačne identifikacije. Osim u prirodnim populacijama *P. expansum*, slični rezultati varijacija zabeleženi su kod izolata te vrste koji su podvrgnuti kontrolisanom uticaju određenih faktora spoljašnje sredine. U istraživanju koje su sproveli Berny i Hennebert (1990), izolati dobijeni od monosporičnog izolata *P. expansum* MUCL 29412 bili su podvrgnuti različitim tehnikama čuvanja na niskim temperaturama (-20 i -196°C) i određenim dozama X-zračenja. Dobijeno je 9 različitih fenotipova, koji su se razlikovali u teksturi i boji kolonija, boji micelije i odlikama konidiogenog aparata. Izuzetak je bila virulencija, jer su svi izolati i dalje zadržali sposobnost patogeneze na veštački inokulisanim plodovima jabuke (Berny i Hennebert 1990).

Razlike u fenotipskim odlikama vrste *P. crustosum* zabeležene su i u istraživanjima drugih autora. Monosporični izolati ove vrste ispoljili su varijacije u izgledu i boji kolonija na Čapekovom agaru (Bridge i dr. 1986). U drugoj studiji ispitivano je 114 različitih morfoloških, fizioloških i biohemijskih parametara tri vrste roda *Penicillium* (*P. crustosum*, *P. granulatum*, *P. aurantiogriseum* var. *aurantiogriseum*) (Bridge i dr. 1987). Trideset šest osobina je značajno variralo, među kojima su prisustvo svetložutog eksudata, oblik i ornamentacija konidija, rast na pH 2, rast na 4°C i dr. Sonjak i dr. (2005) utvrdili su razlike kod izolata *P. crustosum* poreklom iz arktičkih sredina u porastu na CREA, produkciji kiseline na ovoj podlozi i biosintezi sekundarnog metabolita andrastina A.

Varijacije u ispoljenim morfološkim osobinama izolata *P. polonicum* (ali i drugih vrsta ovog roda) uočila je i Johnston (2008) tokom identifikacije izolata poreklom sa ploda ličija u Južnoj Africi. Izolati *P. polonicum* su inicijalno bili podeljeni u 4 morfogrupe, što govori u prilog fenotipskoj varijabilnosti ove vrste.

Sličan fenomen fenotipske varijabilnosti primećen je i kod izolata *P. allii* u Španiji (Gálvez i Palmero 2021). Prilikom proučavanja prouzrokovača truleži belog luka, konstatovano je postojanje više različitih morfotipova *P. allii*. Oni su se razlikovali u teksturi kolonija, prisustvu eksudatnih kapljica i boji pigmenta produkovanog u podlogu (Gálvez i Palmero 2021).

Prema našim saznanjima, nema istraživanja koji su se bavili detaljnim proučavanjem i poređenjem intraspecijskih razlika u izgledu i porastu kultura na hranljivim podlogama za vrste *P. digitatum*, *P. italicum* i *P. olsonii*.

Još jedan od dokaza velike morfološke varijabilnosti vrsta roda *Penicillium* je promena sastava CYA i MEA podloge, dodavanjem elemenata u tragovima (cink i bakar) kako bi se iznivelisale razlike u fenotipskom izgledu do kojih dolazi kada ovih elemenata nema u navedenim hranljivim podlogama. Naime, pokazalo se da nedostatak ovih hemijskih elemenata utiče na formiranje atipičnih kolonija *Penicillium* spp. i na znatne varijacije u boji spora kod izolata iste

vrste, što je otežavalo morfološku identifikaciju (Smith 1949; Frisvad i Samson 2004; Pitt i Hocking 2009).

Mnogo je manje literaturnih opservacija o varijaciji morfoloških (i drugih) osobina za vrste roda *Talaromyces* (Pitt 1973, 1988; Dupont i dr. 2006). S obzirom da se radi o srodnom rodu čiji je veliki broj pripadnika do skoro svrstavan u rod *Penicillium*, može se pretpostaviti da i za *Talaromyces* važi da postoje varijacije u morfologiji.

Iz svega izloženog, može se zaključiti da je fenotipska raznolikost kod ova dva roda uzrokovana inherentnom genetičkom varijabilnošću samih vrsta, a razlike u morfologiji se ispoljavaju kao posledica uticaja faktora spoljašnje sredine ili degeneracije fenotipskih osobina tokom godina rada i intenzivnog presejavanja kultura gljiva u kolekcijama (Bridge i dr. 1986; Visagie i dr. 2014b). Stoga, identifikacija *Penicillium/Talaromyces* spp. ne može da bude zasnovana samo na morfološkim odlikama, već je potrebno primeniti polifazni pristup.

5.3. Odlike izolata vrsta *Penicillium/Talaromyces* na različitim temperaturama inkubacije

Porast izolata *Penicillium/Talaromyces* spp. u ovom istraživanju bio je testiran na CYA podlozi na 3 temperature inkubacije – 5°C, 25°C i 37°C. Poznavanje temperaturnog opsega porasta patogenih gljiva je od značaja prilikom skladištenja plodova i kontrolisanja ambijentalnih uslova u prostorijama za čuvanje. Naime, većina plodova voća i povrća se u skladištima i hladnjačama čuva na temperaturi od 5°C sa ciljem sprečavanja ili usporavanja rasta skladišnih patogena (Snowdon 1990, 1991). Temperatura od 25°C predstavlja optimalnu temperaturu za većinu vrsta gljiva iz navedenih rodova (Frisvad i Samson 2004; Pitt i Hocking 2009). Pitt je u svojim istraživanjima utvrdio da određene vrste *Penicillium/Talaromyces* mogu da rastu na 37°C pa je stoga ova temperatura diferencijalna karakteristika prilikom identifikacije (Pitt 1973; Pitt 1979; Pitt 1994). U našim ogledima ispitivanja uticaja temperature na porast izolovanih gljiva uočena je varijabilnost, kako između različitih vrsta, tako i unutar izolata koji su pripadali istoj vrsti.

Interspecijske razlike u porastu na 5 i 25°C

U našem istraživanju izolati vrsta *P. allii*, *P. crustosum*, *P. expansum*, *P. italicum*, *P. olsonii*, *P. polonicum* i *T. rugulosum* rasli su na temperaturi od 5°C. Navedene vrste se mogu okarakterisati kao psihrotolerantne i prosečne vrednosti porasta na toj temperaturi slične su literaturnim navodima (Pitt 1973, 1988; Frisvad i Samson 2004; Pitt i Hocking 2009; Samson i dr. 2010; Visagie 2012; Yilmaz i dr. 2014). U poređenju srednjih vrednosti porasta kultura na 5°C utvrđene su statistički značajne razlike između različitih vrsta. Vrste koje su najtolerantnije prema ovoj temperaturi su *P. crustosum* i *P. expansum*, dok je *P. olsonii* vrsta sa najmanjim porastom. Taksoni koji nisu formirali kolonije na 5°C su *P. digitatum* i *T. minioluteus*. Odsustvo porasta naših izolata *T. minioluteus* je u saglasnosti sa podacima iz literature (Visagie 2012). Podaci drugih istraživača o porastu *P. digitatum* na temperaturi od 5°C su neusaglašeni. Pitt (1973) navodi porast u opsegu 0-3 mm, dok Pitt i Hocking (2009) ističu da ova vrsta raste u temperaturnom opsegu od 6 do 37°C. Kod Samson i dr. (2010) stoji da je ova vrsta psihrotolerantna, bez preciznijih detalja o temperaturama na kojima može opstati. Frisvad i Samson (2004), i pored opsežne studije, ne navode merenja porasta ove vrste na 5°C. Plaza i dr. (2003) i Lahlali i dr. (2006) su došli do rezultata da *P. digitatum* raste na temperaturama od 4, odnosno 5°C u *in vitro* uslovima, što se razlikuje od naših rezultata. Moguće objašnjenje za različite rezultate porasta *P. digitatum* na ovoj temperaturi je gajenje na različitim podlogama (Plaza i dr. 2003; Lahlali, Serrhini, i Jijakli 2005). Poreklo izolata i intraspecijska genetička varijabilnost izolata su faktori koji takođe doprinose postojanju razlika u porastu kolonija

u okviru iste vrste *Penicillium/Talaromyces* na istoj temperaturi inkubacije (Guerche i dr. 2004; Visagie i dr. 2014b).

Izolati svih detektovanih vrsta *Penicillium/Talaromyces* u našoj studiji su ispoljili porast na temperaturi od 25°C. Uočene su i statistički značajne razlike u porastu različitih vrsta. Dobijeni rezultati potvrđuju prethodne navode da je navedena temperatura optimalna za razvoj ovih vrsta gljiva (Pitt 1973, 1988; Frisvad i Samson 2004; Pitt i Hocking 2009; Samson i dr. 2010; Visagie 2012; Yilmaz i dr. 2014).

Intraspecijske razlike u porastu na 5 i 25°C

Na temperaturi od 5°C utvrđene su statistički značajne razlike u prosečnim vrednostima porasta između izolata iste vrste. Najveće intraspecijske razlike zabeležene su kod izolata *P. expansum* što je saglasnosti sa ranijim nalazima (Donoso i Latorre 2006; Ramos i dr. 2011). Manja variranja prosečnih vrednosti porasta na 5°C uočena su i kod izolata *P. polonicum*, što je slično podacima iz prethodnih studija (Frisvad i Samson 2004; Samson i dr. 2010). Kada su u pitanju izolati vrste *P. italicum*, samo je izolat KrP/9 manifestovao porast na ovoj temperaturi. Slično je utvrđeno i kod vrste *T. rugulosus*, gde je izolat KrP/1 formirao kolonije na 5°C. Razlike u porastu izolata iste vrste zabeležili su i drugi istraživači (Pitt 1973; Frisvad i Samson 2004; Pitt i Hocking 2009; Samson i dr. 2010). Rast *P. italicum* na niskim temperaturama inkubacije je moguća evolutivna strategija prilagođavanja zbog preklapanje ekološke niše sa *P. digitatum*. Obe vrste su patogeni agruma, a rezultati ranijih *in vitro* studija ukazuju da *P. italicum* može da raste na niskim temperaturama (4 i 5°C), dok se *P. digitatum* brže razvija na temperaturi od 25°C (Plaza i dr. 2003; Lahlali i dr. 2006). Vrsta *P. olsonii* je psihrotolerantna, što je potvrđeno i u našem istraživanju. Prema navodima Frisvad i dr. (2000) i Samson i dr. (2010) uobičajena distribucija ove vrste je u regionima sa umerenom i (sup)tropskom klimom, uključujući i objekte koji simuliraju takve klimatske uslove, kao što su staklenici.

Intraspecijske razlike izolata u porastu na temperaturi od 25°C su zabeležene kod izolata svih detektovanih vrsta u našem istraživanju. Najveće varijacije su bile prisutne kod izolata *P. expansum*. Uočena varijabilnost izolata *Penicillium/Talaromyces* je posledica njihovog različitog porekla i fenotipske plastičnosti, odnosno sposobnosti prilagođavanja različitim uslovima sredine (Guerche i dr. 2004; Visagie i dr. 2014b).

Porast na 37°C

Nijedan od testiranih izolata vrsta *Penicillium/Talaromyces* dobijenih u ovom istraživanju (*P. allii*, *P. crustosum*, *P. digitatum*, *P. expansum*, *P. italicum*, *P. olsonii*, *P. polonicum*, *T. minioluteus*, *T. rugulosus*) nije formirao kolonije na 37°C, što je u skladu sa istraživanjima drugih autora (Plaza i dr. 2003; Seifert i dr. 2004; Samson i dr. 2010; Yilmaz i dr. 2014).

5.4. Molekularna identifikacija i karakterizacija izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp.

Molekularna identifikacija i filogenetske analize naših izolata izvršene su korišćenjem 4 genska regiona koji se poslednjih nekoliko godina sve više koriste za vrste *Penicillium* i *Talaromyces*: ITS, *BenA*, *CaM*, *RBP2* (Visagie i dr. 2014b; Yilmaz i dr. 2014). U ovim analizama potvrđene su vrste koje su prethodno determinisane putem morfo-fizioloških karakteristika. U slučaju podgrupa 2 i 3 izdvojenih na osnovu morfofenotipa, molekularna identifikacija je pomogla da se ovi izolati determinišu do nivoa vrste (*P. expansum*). BLAST rezultati naših ITS sekvenci u

retkim, pojedinačnim slučajevima se nisu slagali sa rezultatima BLAST pretrage drugih upotrebljenih molekularnih markera (pre svega poklapanja sa *BenA*). Ovo je očekivano, jer iako je ITS univerzalni molekularni barkod marker u identifikaciji gljiva (Schoch i dr. 2012), on nije dovoljno precizan lokus za vrste iz rodova *Penicillium* i *Talaromyces* (Visagie i dr. 2014b; Yilmaz i dr. 2014). Ovaj nedostatak je potvrđen u našem, ali i u nekim ranijim istraživanjima drugih autora (Skouboe i dr. 1999; Yilmaz i dr. 2016; Yin i dr. 2017). NCBI baza takođe nije najidealnija za poređenje ITS sekvenci jer sadrži sekvence izolata koji nisu identifikovani do kraja ili su potencijalno pogrešno identifikovani. Preporuka u tom slučaju je da se za poređenje ITS sekvenci koristi RefSeq grupa podataka (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>), koja sadrži verifikovane sekvence izolata vaučerskog tipa (Schoch i dr. 2014). Nedostatak RefSeq baze podataka je što ona ne sadrži sekvence alternativnih molekularnih markera. Stoga je uvek za molekularnu identifikaciju važno koristiti još genskih lokusa (tri gorenavedena), pri čemu bi *BenA* trebalo da bude prvi izbor (Visagie i dr. 2014b). *CaM* i *RPB2* takođe su dobri genski lokusi za vrste navedenih rodova jer imaju sličnu moć diskriminacije kao *BenA*, ali problem sa njima je manjak sekvenci u NCBI bazi za oba lokusa (*CaM* i *RPB2*) (Visagie i dr. 2014b). Isti autori navode da je *RPB2* nekad teško uspešno umnožiti, što se potvrdilo u našem slučaju prilikom pokušaja amplifikacije ovog regiona kod izolata *T. minioluteus*, kao i izolata oba *Penicillium/Talaromyces* poreklom sa ploda kruške (Stošić i dr. 2020, 2021). Naime, Yilmaz i dr. (2014) preporučili su touch-up PCR za umnožavanje ovog gena, ali u našoj studiji rezultat je postignut korišćenjem uobičajenog PCR-a (u 3 koraka) sa temperaturom hibridizacije (*eng. annealing*) od 60°C.

U filogenetskim analizama skoro svi izolati dobijeni u ovom istraživanju pozicionirali su se sa umerenim i visokim nivoima pouzdanosti zajedno sa izolatima odgovarajućih vrsta u okviru svakog od konstruisanih filogenetskih stabala. Izuzetak je predstavljalo ITS stablo *Penicillium* spp. (prva filogenetska analiza), gde se izolat *P. expansum* poreklom sa ploda paradajza (ParP/1) svrstao u grupu zajedno sa sekvencama *P. olsonii*, kao i izolat *P. polonicum* ParP/3 koji se grupisao zajedno sa izolatima *P. expansum*. Ovo potvrđuje pomenutu tezu da ITS nije dovoljno informativan marker u identifikaciji/karakterizaciji *Penicillium* vrsta i da se ovakve "greške" mogu dogoditi. Topologija konstruisanih stabala u svim našim analizama odgovarala je topologiji filogenija rađenih u prethodnim istraživanjima koja su obuhvatala vrste ova dva roda (Seifert i Louis-Seize 2000; Skouboe i dr. 2000; Visagie 2012; Yilmaz i dr. 2014; Rajeshkumar i dr. 2019; Habib i dr. 2021).

5.5. Patogenost detektovanih vrsta *Penicillium* i *Talaromyces*

Na uskladištenim plodovima često su prisutne mešovite infekcije, gde se više različitih vrsta gljiva može naći na jednom domaćinu, pa je tada teško identifikovati i izolovati primarnog prouzrokovala bolesti (Cole i Wood 1970; Borecka 1977; Plaza i dr. 2004; Cunningham i Taverner 2007). Infekcije plodova voća i povrća mogu se dogoditi u polju/voćnjaku ili u skladištu. Preklapanje sezona uzgajanja različitog voća i povrća zahteva da se oni čestu zajedno obrađuju u prostorijama za pakovanje i čuvaju u skladištima, magacinima marketa i zajedno izlažu u radnjama. Kompleksne trgovinske mreže svežim voćem i povrćem na globalnom nivou za rezultat imaju poljoprivredne proizvode koji dolaze iz različitih zemalja, noseći na svojoj površini mikrobiotu sa različitim sastavom vrsta, uključujući i potencijalne skladišne patogene. Rizik je posebno veliki na kraju sezone zbog veće koncentracije spora u skladištima i marketima, i prisustva zrelijih i starijih plodova koji su osetljiviji i podložniji infekciji. Svi ovi faktori doprinose jednoj rizičnoj sredini u kojoj se nalaze plodovi, sredini koja ima potencijal za povećanu koncentraciju inokuluma, unakrsnu kontaminaciju, unakrsnu infekciju i, na kraju, razvoj i širenje bolesti, truleži i propadanja plodova i ekonomskih gubitaka (Louw i Korsten 2016). Unakrsna kontaminacija, unakrsna infekcija i patogenost nekoliko značajnih *Penicillium* vrsta na "tipičnim" i "netipičnim" biljnim domaćinima široko je obrađena u više radova Louw i Korsten (2013, 2015, 2016) i Scholtz i Korsten (2016). Vrste iz rodova *Penicillium/Talaromyces* odlikuju spore koje su male, lagane, imaju visoku

odnosno produženu vijabilnost (tolerancija raznih stresnih uslova), sa visokom adhezivnošću tj. izraženom sposobnošću “kačenja” na praktično bilo koju površinu (supstrat), što omogućava kolonizaciju brojnih supstrata a kasnije i unakrsnu kontaminaciju (de Reuck, Zeeman, i Korsten 2008; Johnston 2008). Putem vazdušnih struja, kiše, i aktivnostima u voćnjaku/povrtnjaku kao što je košenje, spore gljiva iz ova dva roda se vrlo lako mogu preneti na obližnje, zdrave plodove (Dutot, Nelson, i Tyson 2013). U drugom slučaju, prenos konidija se može ostvariti direktnim kontaktom između zdravih i bolesnih plodova u istoj gajbici/korpi u toku čuvanja u skladištu (ranije pomenuti “nesting”, tj. gnežđenje), čime se infekcija prenosi na zdrave plodove (Barmore i Brown 1982; Amiri i Bompeix 2005; Batta 2006). Takođe, ako sanitarne procedure nisu temeljno sprovedene u prostorijama za pakovanje i skladištima, transfer spora moguć je i sa kontaminiranih gajbica/korpi ili rezervoara vode korištene za ispiranje plodova (Sanderson i Spotts 1995; Palou 2014). Prenosioci spora *Penicillium* i *Talaromyces* mogu biti i neki insekti, poput voćne mušice (*Drosophila melanogaster* (Meig.)) i mediteranske voćne muve (*Ceratitis capitata* Wiedem) (Batta 2006; Radonjić 2011). U istraživanju sprovedenom u Palestini, adulti voćne mušice preneli su spore *P. expansum* sa inficiranih plodova nektarine na zdrave plodove, i to na dva načina: 1) preko kačenja spora za dlačice na abdomenu insekta u toku polaganja jaja ili dlačica u blizini proboscisa tokom ishrane voćem; 2) putem transfera spora sa nogu mušica do otvora na plodovima, koji mogu predstavljati prethodna oštećenja ili prirodne otvore na površini ploda (Batta 2006).

Vrste *Penicillium/Talaromyces* detektovane u ovom istraživanju uspešno su kolonizovale brojne biljne domaćine - plodove voća i povrća, lukovice, korene i krtole. Na ovim biljnim domaćinima su utvrđeni i kao izazivači plavih i zelenih truleži. Neki od tih biljnih domaćina nisu “tipični” supstrati na kojima ove vrste opstaju, odnosno ne postoji jaka veza između patogena i domaćina (*eng. pathogen-host association*). Međutim, treba imati u vidu da se gljive iz ova dva roda u ekološkom smislu mogu smatrati polifagnim patogenima, odnosno generalistima kada je u pitanju preferencija domaćina, supstrata i staništa, i da je njihova glavna uloga u ekosistemima razlaganje organske materije (Frisvad i Samson 2004; Visagie i dr. 2014b). Zbog svoje uloge u prirodi, moguće je da neke vrste *Penicillium* i *Talaromyces* izazovu nekrozu na plodovima na kojima do sada inače nisu bili zabeleženi. Sa druge strane, infekcija uskladištenih plodova voća i povrća manje patogenim ili netipičnim vrstama *Penicillium/Talaromyces* možda neće izazvati velike ekonomske štete, ali može oslabiti plodove, čineći ih podložnijim infekciji drugim, agresivnijim i virulentnijim patogenim vrstama iz ovih rodova. Razvoj patogenih gljiva slabije virulencije na plodovima svakako umanjuje njihov kvalitet i čini ih nepodobnim za plasman na tržište. Neke od tih vrsta su i producenti mikotoksina, stoga je od vrlo velike važnosti da se njihova pojava na plodovima spreči ili smanji.

Patogenost *P. expansum*

P. expansum je vrsta koja je u ovom istraživanju izolovana i potvrđena kao prouzrokovatelj truleži najvećeg broja plodova voća i povrća: jabuke, dunje, kruške, nektarine, grejpfruta, limuna, mandarine, pomorandže, kivija, paradajza i šargarepe. Prve detekcije ove vrste predstavljaju nalazi sa 9 domaćina: plodovi kruške, nektarine, paradajza, grejpfruta, mandarine, limuna, pomorandže, kivija, i korena šargarepe (Stošić, Ristić, i Živković 2021; Stošić i dr. 2021; Živković i dr. 2022; Stošić, Delić, i Živković 2022).

Ova vrsta se u literaturi često označava kao prouzrokovatelj truleži plodova jabučastog voća (jabuka, kruška, dunja) i koštičavog voća (nektarina, breskva, kajsija) (Thom 1910; Barkai-Golan 1974; Borecka 1977; Snowdon 1990; Lurie i dr. 1995; Sanderson i Spotts 1995; Sharma i Sumbali 1997; Karabulut i dr. 2002; Karabulut i Baykal 2003; Amiri i Bompeix 2005; Louw 2014; Louw i Korsten 2016; Žebeljan i dr. 2021). Rezultati provere patogenosti naših izolata *P. expansum* u skladu su sa navodima ovih autora.

P. expansum se ranije u literaturi nije navodio kao patogen plodova agruma. Međutim, ova vrsta je u poslednjih nekoliko godina potvrđena kao patogen plodova mandarine (Moosa i dr. 2019; El-Dawy i dr. 2021), limuna (El-Dawy i dr. 2021; Khokhar i dr. 2021) i pomorandže (Pimenta i dr. 2008; El-Dawy i dr. 2021). Podaci o patogenosti *P. expansum* na plodovima grejpfruta su prilično oskudni, i uglavnom se odnose na izolaciju ove gljive sa biljke domaćina, bez kasnije potvrde Kohovih postulata (Skouboe i dr. 2000). Naši rezultati detekcije i patogenosti *P. expansum* na grejpfrotu su prvi tog tipa u svetu.

Ova vrsta je u našem istraživanju izolovana i potvrđena kao patogen plodova kivija, što je saglasno sa podacima u literaturi (Tang i dr. 2015; Wang i dr. 2015; Wang i dr. 2017; Zheng i dr. 2017; Prodromou, Thomidis, i Zambounis 2018).

P. expansum je u našoj studiji potvrđen i kao prouzrokovatelj plave truleži plodova paradajza. Naši nalazi istovetni su istraživanjima Barkai-Golan u Izraelu (1974) i Fajola (1979) u Nigeriji, gde je *P. expansum* izolovan i potvrđen kao patogen na ovom domaćinu. Navedena gljiva izolovana je sa plesnivih plodova paradajza i kod Harwig i dr. (1979), ali bez kompletiranja Kohovih postulata. U drugom istraživanju *P. expansum* je inokulisan na plodove paradajza gde je izazvao infekciju, ali poreklo ovog izolata je sa ploda jabuke (Miedes i Lorences 2006).

U ovoj studiji *P. expansum* je detektovan i potvrđen kao patogen korena šargarepe. Ova vrsta nađena je na korenu šargarepe i ranije (Snowdon 1991; Andersen, Smedsgaard, i Frisvad 2004; Lugauskas, Repečkienė, i Henrikas 2005), međutim u citiranim istraživanjima nema rezultata testova patogenosti. U studiji Kora, McDonald, i Boland (2005) izolovane su različite vrste gljiva sa drvenih korpi u kojima su čuvane šargarepe i testirana je njihova patogenost na ovom biljnom domaćinu. Međutim, izolati *Penicillium* su identifikovani samo do nivoa roda, pa se ne može sa sigurnošću tvrditi da je reč o *P. expansum* (Kora, McDonald, i Boland 2005). Imajući u vidu prethodno navedeno, rezultati našeg istraživanja su prvi u svetu gde je *P. expansum* izolovan sa korene šargarepe a potom i potvrđen kao patogen ovog povrća.

P. expansum je patogen koji je izolovan sa najvećeg broja biljaka domaćina i bio jedan od najagresivnijih u testovima patogenosti u našem istraživanju. U statističkim analizama poređenja virulentnosti izolovanih gljiva sa tih domaćina, *P. expansum* je bio najvirulentniji na plodovima dunje, kruške, pomorandže i paradajza. Ovi rezultati su u skladu sa nalazima drugih autora gde se navodi da je *P. expansum* na uskladištenom voću i povrću jedan od najagresivnijih patogena roda *Penicillium* (Oliveri i dr. 2007; Neri i dr. 2010; Sanzani i dr. 2013; Smiri i dr. 2021; Žebeljan i dr. 2021). *P. expansum* je bio najvirulentniji patogen na plodovima kruške u istraživanjima Sandersona i Spotts-a (1995) u SAD-u, Kim i dr. (2002) u Koreji, Louw i Korsten (2014) u Južnoj Africi, Oliveri i dr. (2007) u Italiji. Izražena agresivnost ovog patogena zapažena je i na plodovima kajsija, jabuka i grožđa (Oliveri i dr. 2007). Podaci Barkai-Golan (1974) iz Izraela govore i da je u pitanju gljiva koja ima veliku sposobnost kolonizacije i infekcije brojnih i raznovrsnih biljnih domaćina. Barkai-Golan (1974) takođe navodi da su, uz grožđe, plodovi paradajza i kruške najpodložniji kolonizaciji i razvoju različitih gljiva roda *Penicillium*.

Širok spektar domaćina, kosmopolitsko rasprostranjenje, brza stopa rasta i visoka virulentnost su osobine na osnovu kojih se *P. expansum* može okarakterisati kao patogen širokog spektra (Pitt 1979; Pitt i Hocking 2009; Neri i dr. 2010; Samson i dr. 2010; Vilanova i dr. 2012a). Ove odlike predstavljaju izuzetnu kompetitivnu prednost *P. expansum* u kolonizaciji biljnih domaćina i omogućavaju brži rast i prepokrivanje nekih drugih vrsta *Penicillium/Talaromyces*, pogotovo u situacijama kada su na plodovima prisutne mešovite infekcije (Quintanilla 1985; Sanderson i Spotts 1995).

Patogenost *P. polonicum*

U ovom istraživanju, *P. polonicum* je ispoljio patogenost na plodovima paradajza, limuna i lukovicama belog luka. U svetu je ova vrsta ranije potvrđena kao izazivač truleži plodova paradajza gajenim u staklenicima u Kanadi (Chatterton, Wylie, i Punja 2012) i lukovica belog luka u Pakistanu (Bashir i dr. 2017). U kanadskom istraživanju, *P. polonicum* je bio najagresivniji patogen na plodu paradajza i bolest je izazvala brzo propadanje velikog broja plodova (Chatterton, Wylie, i Punja 2012). Ova vrsta je kod nas ispoljila manju agresivnost.

P. polonicum je ranije izolovan u Egiptu sa plodova limuna, mandarine i pomorandže, ali je patogenost izolata potvrđena samo na plodu pomorandže (El-Dawy i dr. 2021). Prema Kim i dr. (2008) i Chen i dr. (2017), *P. polonicum* je detektovan i na plodovima drugih citrusa u Koreji i Kini. Takođe, *P. polonicum* je potvrđen kao patogen uskladištenih plodova jabuke (Basson, Meitz-Hopkins, i Lennox 2019; Bradshaw i dr. 2022), kruške (Khokhar i dr. 2019) i krtola jerusalimske artičoke (*Helianthus tuberosus*) (Al-Askar i dr. 2021). Frisvad i Samson (2004) navode i crni luk kao jednu od mogućih biljaka domaćina ove vrste, ali bez detaljnijih podataka o patogenosti.

Patogenost *P. allii*

Naši izolati *P. allii* u ogledu patogenosti izazvali su simptome tipične za plave truleži lukovica belog i crnog luka. Rezultati ovog istraživanja su u skladu sa ranije objavljenim podacima, jer je ova vrsta više puta potvrđena kao patogen na navedenim domaćinima (Overy i dr. 2005; Valdez i dr. 2006; Moharam, Farrag, i Mohamed 2013; Dugan i dr. 2014; Gálvez i Palmero 2021). U ranijim istraživanjima identifikovane su i druge vrste roda *Penicillium* koje mogu biti patogeni lukovica belog luka (npr. *P. hirsutum*, *P. venetum*, *P. polonicum*, *P. tulipae*), međutim izolati *P. allii* su u najvećem broju slučajeva bili među najvirulentnijim na ovom domaćinu. Ovo je u saglasnosti i sa našim nalazima, jer je od tri detektovane vrste na belom luku (*P. polonicum*, *P. italicum*, *P. allii*), *P. allii* ispoljio najveću virulentnost. Dugan, Hellier i Lupien (2011) ističu kako je *P. allii* glavni prouzrokovatelj propadanja lukovica belog luka u skladištima. Primarni izvor inokuluma su najčešće inficirane lukovice koje se koriste kao sadni materijal. Iako su Vincent i Pitt opisali ovu vrstu upravo koristeći izolate sa lukovica belog luka (1989), u tom istraživanju nisu proveravali njihovu patogenost.

Rezultati našeg istraživanja su prvi nalaz gde je *P. allii* izolovan i potvrđen kao patogen lukovica crnog luka. U ogledima koje su sproveli Overy i dr. (2005) i Dugan i dr. (2014), izolati *P. allii* su ispoljili patogenost na lukovicama crnog luka, ali su izolovani sa belog luka. Kao prouzrokovatelji plave truleži lukova u Srbiji su do sada potvrđeni jedino *P. expansum*, *P. polonicum* i *P. glabrum*, i to na crnom luku (Duduk i dr. 2014, 2017).

Tokom 20. veka izolati *Penicillium* spp. koji su utvrđeni kao prouzrokovatelji plave truleži ukrasnih i jestivih lukovica su uglavnom identifikovani kao *P. hirsutum* Dierckx (1901) ili *P. corymbiferum* Westling (1911). Njih je Pitt (1979) u jednom trenutku označio kao sinonime, vodeći se činjenicama koje su ranije izneli Thom (1930) i Raper i Thom (1949). Stoga se u literaturi uglavnom sreću ova dva imena, npr. u Smalley i Hansen (1962), Miller i dr. (1977), Bertolini i Tian (1996) Cavagnaro i dr. (2005), Kamenetsky (2007), Barkai-Golan (2008). Opravdana pretpostavka je da su neki od ovih izolata pripadali vrsti *P. allii*, ali da su zbog morfološke sličnosti ili moguće fenotipske varijabilnosti izolata pogrešno identifikovani kao *P. hirsutum*/*P. corymbiferum*.

Patogenost *P. italicum*

U testu provere patogenosti *P. italicum* je na plodovima kruške izazvao nekrotične lezije koja odgovaraju reakciji tkiva ploda na veštačku inokulaciju (*eng. tissue response lesions*). Iako je došlo do sporulacije gljive unutar lezije, ova reakcija ne može biti okarakterisana kao patogenost. Dobijeni rezultat vrlo je sličan reakciji tkiva ploda citrusa na infekciju *P. crustosum* i *P. expansum* (Louw i Korsten 2015). Kao što je već pomenuto, *P. italicum* je uglavnom u literaturi okarakterisan kao izazivač plave truleži plodova citrusnog voća i smatra se da su ovi plodovi jedini biljni domaćini ove vrste (Smith i dr. 1988; Frisvad i Samson 2004; Palou 2014). Međutim, postoje navodi da je ova vrsta patogen ploda šljive (Valiuškaitė 2002), kao i više vrsta drugog voća i povrća u Izraelu (Barkai-Golan 1974). U navedenom istraživanju *P. italicum* je izolovan sa ploda paradajza, a u testu unakrsnih inokulacija ispoljio je virulentnost i na plodovima kruške, grožđa, jagoda, dinje, plavog patlidžana i paradajza (Barkai-Golan 1974). Takođe, *P. italicum* je izolovan i iz skladišta jabuka u Tunisu i potvrđena je njegova patogenost na plodovima jabuka (Smiri i dr. 2021). Ova vrsta je pronađena i u skladištima plodova ličija i kruške (Johnston 2008; Scholtz i Korsten 2016). Detektovana je i na plodovima jabuke, kajsije, pomorandže, mandarine, manga i kivija ali nedostaju dokazi o njenoj patogenosti na ovim biljnim domaćinima (Lugauskas, Raudoniene, i Šveistyte 2005).

Pored plodova kruške, *P. italicum* je u ovoj studiji detektovan i potvrđen kao patogen na lukovicama belog luka. Prema našim saznanjima, nema literaturnih podataka o tome da je ova vrsta izolovana i potvrđena kao patogen na ovom domaćinu. Nalaz *P. italicum* iz našeg istraživanja predstavlja prvi rezultat tog tipa u svetu.

Patogenost *P. olsonii*

U testu patogenosti u okviru ove studije, izolat *P. olsonii* je bio virulentan na plodovima paradajza. Ovaj rezultat predstavlja prvi nalaz u Evropi (i Srbiji), i u saglasnosti je sa istraživanjima drugih autora (Chatterton, Wylie, i Punja 2012; Punja i dr. 2016; Anjum i dr. 2018). U radu Chatterton i dr. (2012), u okviru proučavanja uzročnika truleži plodova paradajza uzgojenim u staklenicima, *P. olsonii* je bio izolovan u najvećem procentu. *P. olsonii* je nedavno detektovan i kao patogen grožđa u Kini (Zou i dr. 2021). U istraživanju koje je sprovedeno u Italiji (Oliveri i dr. 2007), *P. olsonii* je ispoljio slabu virulentnost na kajsijama i grožđu. Međutim, poreklo ovih izolata nije bilo sa pomenutih plodova, već iz vazduha i sa površina u prostorijama za pakovanje plodova. Ova vrsta je prethodno izolovana i sa plesnivih plodova paradajza u Danskoj (Andersen i Frisvad 2004), ali patogenost na primarnom domaćinu nije potvrđena. Pomenuta vrsta ranije je izolovana i sa drugih biljaka domaćina, plodova grožđa (Serra i Peterson 2007), jagoda (Jensen i dr. 2013), kafe (Vega i dr. 2006) i konoplje (Punja i dr. 2019), ali bez potvrde Kohovih postulata. Više drugih autora navodi da je ova vrsta čest stanovnik u staklenicima i kućama/stanovima (Frisvad i dr. 2000; Rodolfi, Lorenzi, i Picco 2003; Reboux i dr. 2009).

Patogenost *P. digitatum*

Jedna od vrsta koji je izolovana sa ploda limuna i potvrđena kao patogen na ovom domaćinu u našoj studiji je i *P. digitatum*. Ovaj rezultat saglasan je sa ranijim nalazima u svetu (Raper i Thom 1949; Holmes i Eckert 1999; Smilanick i dr. 2006; Louw i Korsten 2015; Palou 2014). Od 4 patogene vrste izolovane sa plodova limuna u našem istraživanju (*P. digitatum*, *P. expansum*, *P. polonicum*, *T. rugulosus*), *P. digitatum* je bio najagresivniji u testu patogenosti. Veštački inokulisani plodovi limuna bili su potpuno prekriveni sporama *P. digitatum*. Na preseccima je uočena je sporulacija i gubitak vode, usled čega dolazi do mumificiranja plodova. Ovaj simptom na

plodovima citrusa može da posluži u dijagnostici i preliminarnom razlikovanju vrsta *P. digitatum* i *P. italicum*. Plodovi citrusa inficirani sa *P. digitatum* u kasnijim fazama razvoja truleži postaju mumificirani, dok infekcija sa *P. italicum* na kraju dovodi do omekšalih i sluzavih plodova (Smith i dr. 1988).

Ova vrsta je, uz *P. italicum*, tipični patogen plodova citrusnog voća, kako komercijalnih vrsta i sorti (*Citrus* spp.), tako i srodnih rodova kao što su *Fortunella*, *Poncirus* i *Citrofortunella* (Palou 2014). Pored plodova, *P. digitatum* je čest stanovnik zemljišta u voćnjacima gde se gaje citrusi. Geografsko rasprostranjenje ove gljive obuhvata regione u kojima sa gaje agrumi, dakle područja sa mediteranskim tipom klime, osobena po blagim zimama i toplim, sušnim letnjim mesecima (Palou 2014). Ranije je navedeno da između nekih vrsta *Penicillium*-a i određenih biljnih domaćina postoji veza „patogen-domaćin“. *P. digitatum* je primer te, tzv. kompatibilne interakcije patogena i plodova citrusnog voća (Vilanova i dr. 2012b). Neki autori (Frisvad i Samson 2004) navode da je malo verovatno da se *Penicillium* spp. sa plodova agruma mogu naći na drugim biljnim domaćinima. Međutim, poslednjih godina objavljeno je više radova koji ukazuju na neophodnost redefinisavanja tog stava. Naime, *P. digitatum* je potvrđen kao patogen plodova paradajza (Abdolahi i dr. 2010), jabuke (Vilanova i dr. 2012a), kruške (Louw i Korsten 2014), šljive i nektarine (Louw i Korsten 2016), i breskve (Zhang i dr. 2019).

Patogenost *T. minioluteus*

T. minioluteus je vrsta sa kosmopolitskim rasprostranjenjem, ali je u većini studija izolovana sa malom učestalošću u poređenju sa ostalim gljivama (Magnoli i dr. 1998; Sage, Garon, i Seigle-Murandi 2004; Nesci i dr. 2006; Hujšlová i dr. 2010), te je malo podataka i o njenoj patogenosti na biljnim domaćinima. Drugi razlog za manjak informacija o patogenosti *T. minioluteus* mogu biti i mešovite infekcije, gde neke fitopatogene gljive mogu brže da kolonizuju biljku domaćina i prekriju primarnog patogena. Quintanilla (1985) je naveo primer gde je micelija *T. minioluteus* (ranije *P. samsonii*) na inficiranim plodovima jabuke nakon produžene inkubacije bila prekrivena micelijom *P. expansum*.

T. minioluteus je do sada potvrđen kao patogen ploda jabuke (Viñas i dr. 1993). Palou i dr. su u dva navrata (2010, 2013) izolovali ovu vrstu sa ploda nara, međutim ona nije izazvala nekrozu ploda u testovima provere patogenosti. Izolati *T. minioluteus* iz našeg istraživanja dobijeni su sa plodova dunje, kruške, paradajza, pomorandže, lukovica crnog luka i potvrđeni kao patogeni na njima. Izolat poreklom sa krompira nije bio patogen na ovom domaćinu. Intenzitet izazvanih nekroza bio je vizuelno najuočljiviji na plodovima dunje, pogotovo na presecima. Destrukcija tkiva je zahvatila veliki deo mezokarpa i dosegla do endokarpa. Ovo nije bilo očekivano s obzirom na prisustvo karakterističnih kamenih (sklereidnih) ćelija u plodu dunje koje daju osobenu tvrdoću i teksturu a služe i kao zaštita ploda od različitih patogena i insekata (Bourne 1979; Zhang i dr. 2020). Vrsta *T. minioluteus* je u našem istraživanju prouzrokovala značajnu nekrozu i na plodu paradajza, što je očekivano s obzirom na tanku pokožicu koja je slaba barijera za prodor patogena unutar ploda (Andersen i Frisvad 2004). Takođe, osetljivost prema patogenima raste usled intenziviranja disanja i sinteze etilena u procesu dozrevanja plodova (Silva i dr. 2021). U studiji koju je sprovedla Barkai-Golan (1974), paradajz je označen kao jedan od plodova najpodložnijih kolonizaciji i razvoju *Penicillium/Talaromyces* spp.

Patogenost *T. rugulosus*

U našem istraživanju patogenost *T. rugulosus* je dokazana na plodovima kruške i limuna. U pitanju su prvi nalazi ove vrste u svetu kao skladišnog patogena na pomenutim plodovima (Stošić i

dr. 2021, 2022). Prema našim saznanjima, ovo je prva detekcija bilo kog pripadnika roda *Talaromyces* na plodu limuna.

T. rugulosus je izolovan sa plodova jabuka u studiji Vismer i dr. (1996) u Južnoj Africi, i sa uskladištenih korenova šećerne repe (Strausbaugh 2018). U ogleđima patogenosti u tim istraživanjima *T. rugulosus* nije izazvao nekroze na izvornim domaćinima. U testu unakrsnih inokulacija koje je u Izraelu izvela Barkai-Golan (1974), izolat *T. rugulosus* (= *P. rugulosum*) poreklom sa ploda jabuke produkovao je nekroze na plodovima jabuke, kruške, grožđa i paradajza. Kada su u pitanju druge vrste roda *Talaromyces* izolovane sa ploda kruške, samo jedna vrsta je do sada izolovana – *T. diversus* (navedena pod tada važećim imenom *P. diversum*), u Poljskoj (Borecka 1977). Pitt i Hocking (2009) ističu da *T. rugulosus* može biti biljni patogen, i da je verovatno više zastupljen nego što trenutni nalazi govore.

6. ZAKLJUČAK

U periodu 2015-2020. godine sakupljeno je 729 uzoraka (plodova, krtola, lukovica i korena voća i povrća), sa kojih je dobijeno 173 izolata *Penicillium* i *Talaromyces* spp. Za dalju detaljnu identifikaciju i karakterizaciju odabrana su 54 izolata. U pitanju je prva sveobuhvatna studija vrsta *Penicillium* i *Talaromyces* kao prouzrokovača plavih i zelenih truleži na uskladištenom voću i povrću u našoj zemlji. Izvedeni su sledeći zaključci:

- Simptomi plavih i zelenih truleži su zabeleženi na 14 različitih biljaka domaćina (jabuka, kruška, dunja, nektarina, paradajz, pomorandža, limun, mandarina, grejpfrut, kivi, crni luk, beli luk, krompir, šargarepa);
- Korišćenjem polifaznog pristupa identifikovano je 7 vrsta roda *Penicillium* (*P. allii*, *P. crustosum*, *P. digitatum*, *P. expansum*, *P. italicum*, *P. olsonii* i *P. polonicum*) i 2 vrste roda *Talaromyces* (*T. minioluteus* i *T. rugulosus*);
- Detektovana je morfološka varijabilnost među izolatima iste vrste na istim tipovima podloga, i variranje u porastu izolata iste vrste na istim testiranim temperaturama inkubacije, što je odraz i fenotipske plastičnosti vrsta ovih rodova;
- Konačna identifikacija svih izolata je izvršena nakon kombinovanja podataka dobijenim konvencionalnim metodama i onim iz molekularnih i filogenetskih analiza;
- *BenA* je bio pouzdaniji genski lokus za molekularnu identifikaciju vrsta navedenih rodova u odnosu na ITS region;
- Identifikovane vrste *Penicillium/Talaromyces* su detektovane na sledećim domaćinima:
 - *P. allii* - crni luk i beli luk
 - *P. crustosum* - kruška
 - *P. digitatum* - limun
 - *P. expansum* - jabuka, kruška, dunja, nektarina, paradajz, pomorandža, limun, mandarina, grejpfrut, kivi, šargarepa
 - *P. italicum* - kruška, beli luk
 - *P. olsonii* - paradajz
 - *P. polonicum* - paradajz, limun
 - *T. minioluteus* - kruška, dunja, paradajz, pomorandža, crni luk, krompir
 - *T. rugulosus* - kruška, limun
- Vrste *P. expansum* i *T. minioluteus* detektovane su na najvećem broju biljaka domaćina - 11, odnosno 6 različitih domaćina;
- Potvrđena je patogenost svih izolovanih vrsta na izvornim biljkama-domaćinama, osim u slučaju izolata *T. minioluteus* na krtolama krompira;
- U prve detekcije i potvrde patogenosti izolovanih vrsta u svetu ubrajaju se:
 - *T. minioluteus* na plodovima kruške, dunje, paradajza, pomorandže i lukovica crnog luka;
 - *T. rugulosus* na plodovima kruške;
- Nalaz *P. olsonii* kao patogena ploda paradajza je prvi u Srbiji i prvi za područje Evrope;
- Prema našim saznanjima, u prve detekcije i potvrde patogenosti izolovanih vrsta u Srbiji ubrajaju se i:
 - 1) *P. expansum* na plodovima nektarine, mandarine, grejpfruta, kivija, limuna, paradajza, pomorandže, kruške i korenu šargarepe;
 - 2) *P. allii* na lukovicama belog i crnog luka;
 - 3) *P. polonicum* na lukovicama belog luka i plodovima limuna i paradajza;
 - 4) *P. italicum* na lukovicama belog luka i plodovima kruške;
 - 5) *T. rugulosus* i *P. digitatum* na plodovima limuna.

7. LITERATURA

- Abd El-Rahim, Wafaa M., Hassan Moawad, Mohamed M. Hashem, Gebreil M.M. Gebreil, and Mohamed Zakaria. 2020. "Highly efficient fungal pectinase and laccase producers among isolates from flax retting liquor." *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 25 (May): 101570.
- Abdel-Fatah, Sobhy S., Ahmed I. El-Batal, Gamal M. El-Sherbiny, Mahmoud A. Khalaf, and Ashraf S. El-Sayed. 2021. "Production, bioprocess optimization and γ -irradiation of *Penicillium polonicum*, as a new Taxol producing endophyte from *Ginko biloba*." *Biotechnology Reports* 30 (June): e00623.
- Abdel-Rahim, Ismail R., and Kamal A.M. Abo-Elyousr. 2018. "*Talaromyces pinophilus* strain AUN-1 as a novel mycoparasite of *Botrytis cinerea*, the pathogen of onion scape and umbel blights." *Microbiological Research* 212–213 (July): 1–9.
- Abdolahi, Ali, Abbas Hassani, Youbert Ghosta, Taimoor Javadi, and Mohammad Hadi Meshkatalasadat. 2010. "Essential oils as control agents of postharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits." *Journal of Food Safety* 30 (2): 341–52.
- Abe, Shigeo. 1956. "Studies on the classification of the Penicillia." *The Journal of General and Applied Microbiology* 2 (1–2): 1–194.
- Agrios, George N. 2005. *Plant Pathology*. 5th ed. San Diego: Academic Press, Inc.
- Ahn, Geum Ran, Bo Young Kim, Geun Sick Lee, Min Woo Hyun, Chan-Jung Lee, and Seong Hwan Kim. 2016. "A report of five unrecorded fungal species of Korea." *The Korean Journal of Mycology* 44 (4): 240–46.
- Ahn, Geum Ran, Susan Kim, Jung A Kang, and Seong Hwan Kim. 2019. "Investigation of fungi in filters equipped in air cleaners in resident houses." *Journal of Odor and Indoor Environment* 18 (3): 236–43.
- Al-Askar, Abdulaziz, Ehsan Rashad, Khalid Ghoneem, Ashraf Mostafa, Fatimah Al-Otibi, and WesamEldin Saber. 2021. "Discovering *Penicillium polonicum* with high-lytic capacity on *Helianthus tuberosus* tubers: oil-based preservation for mold management." *Plants* 10 (2): 413.
- Alagesaboopathi, C. 1994. "Biological control of damping-off disease of cotton seedling." *Current Science* 66 (11): 865–68.
- Alananbeh, Kholoud M, Nahla Boquellah, Nadia Al Kaff, and Majid Al Ahmadi. 2017. "Evaluation of aerial microbial pollutants in Al-Haram Al-Nabawi during pilgrimage of 2013." *Saudi Journal of Biological Sciences* 24 (1): 217–25.
- Alkan, Noam, Eduardo A. Espeso, and Dov Prusky. 2013. "Virulence regulation of phytopathogenic fungi by pH." *Antioxidants & Redox Signaling* 19 (9): 1012–25.
- Alkan, Noam, and Ana M. Fortes. 2015. "Insights into molecular and metabolic events associated with fruit response to post-harvest fungal pathogens." *Frontiers in Plant Science* 6 (October): 889.
- Ametefe, G. D., A. O. Lemo, F. A. Orji, A. K. Lawal, E. E. J. Iweala, and S. N. Chinedu. 2022. "Pectinase activities of selected fungi grown on agrowastes via solid-state fermentation." *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 1054 (1): 012003.

- Amiri, A., and G. Bompeix. 2005. "Diversity and population dynamics of *Penicillium* spp. on apples in pre- and postharvest environments: consequences for decay development." *Plant Pathology* 54 (1): 74–81.
- Anastassiadis, S., A. Aivasidis, and C. Wandrey. 2003. "Continuous gluconic acid production by isolated yeast-like mould strains of *Aureobasidium pullulans*." *Applied Microbiology and Biotechnology* 61 (2): 110–17.
- Andersen, Birgitte, and Jens C. Frisvad. 2004. "Natural occurrence of fungi and fungal metabolites in moldy tomatoes." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (25): 7507–13.
- Andersen, Birgitte, Jørn Smedsgaard, and Jens C Frisvad. 2004. "*Penicillium expansum*: consistent production of patulin, chaetoglobosins, and other secondary metabolites in culture and their natural occurrence in fruit products." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 2421–28.
- Andrianopoulos, Alex. 2002. "Control of morphogenesis in the human fungal pathogen *Penicillium marneffei*." *International Journal of Medical Microbiology* 292 (5–6): 331–47.
- Anjum, N., A. A. Shahid, S. Iftikhar, K. Nawaz, and M. S. Haider. 2018. "First report of postharvest fruit rot of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) caused by *Penicillium olsonii* in Pakistan." *Plant Disease* 102 (2): 451–451.
- Aran, Necla, and Dilek Eke. 1987. "Mould mycoflora of some Turkish cereals and cereal products." *MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* 3 (3): 281–87.
- Avilés-Robles, Martha, Carlos Gómez-Ponce, Jesús Reséndiz-Sánchez, Aída Verónica Rodríguez-Tovar, Adrián Ceballos-Bocanegra, and Ángeles Martínez-Rivera. 2016. "Disseminated penicilliosis due to *Penicillium chrysogenum* in a pediatric patient with Henoch–Schönlein Syndrome." *International Journal of Infectious Diseases* 51 (October): 78–80.
- Aziz, Nagy H., Zakaria Ahmed Mattar, and Souzan Rousdy Mahrous. 2006. "Contamination of grains by mycotoxin-producing molds and mycotoxins and control by gamma irradiation." *Journal of Food Safety* 26 (3): 184–201.
- Babović, Milorad, Milivoje Perišić, Slavoljub Marković, Saša Stojanović, and Živomir Pantelić. 1979. "Investigation on rot of apple fruits in cold storehouse." *Zaštita bilja* 147: 83–87.
- Baffi, Milla Alves, Sheila Romo-Sánchez, Juan Úbeda-Iranzo, and Ana Isabel Briones-Pérez. 2012. "Fungi isolated from olive ecosystems and screening of their potential biotechnological use." *New Biotechnology* 29 (3): 451–56.
- Baker, Kenneth F, and F D Heald. 1932. "The importance of lenticel infection of apples by *Penicillium expansum*." *Washington Agriculture Experiment Station Bulletin* 264 (June): 1–15.
- Barad, Shiri, Eduardo A. Espeso, Amir Sherman, and Dov Prusky. 2016. "Ammonia activates *PacC* and patulin accumulation in an acidic environment during apple colonization by *Penicillium expansum*." *Molecular Plant Pathology* 17 (5): 727–40.
- Barad, Shiri, Sigal Brown Horowitz, Oren Moscovitz, Amnon Lichter, Amir Sherman, and Dov Prusky. 2012. "A *Penicillium expansum* glucose oxidase-encoding gene, *GOX2*, is essential for gluconic acid production and acidification during colonization of deciduous fruit." *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25 (6): 779–88.
- Barkai-Golan, Rivka. 1974. "Species of *Penicillium* causing decay of stored fruits and vegetables in Israel." *Mycopathologia et Mycologia Applicata* 54: 141–45.

- . 2001. *Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables: Development and Control*. 1st ed. Amsterdam, the Netherlands: Elsevier Science B.V.
- . 2008. “*Penicillium* mycotoxins.” In *Mycotoxins in Fruits and Vegetables*, edited by Rivka Barkai-Golan and Nachman B T - Mycotoxins in Fruits and Vegetables Paster, 153–83. San Diego: Elsevier.
- Barmore, Charles R., and G Eldon Brown. 1979. “Role of pectolytic enzymes and galacturonic acid in citrus fruit decay caused by *Penicillium digitatum*.” *Phytopathology* 69 (6): 675–78.
- . 1982. “Spread of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* during contact between citrus fruits.” *Phytopathology* 72 (1): 116–20.
- Bartholomew, Holly P., Michael J. Bradshaw, Otilia Macarisin, Verneta L. Gaskins, Jorge M. Fonseca, and Wayne M. Jurick. 2022. “More than a virulence factor: patulin is a non-host-specific toxin that inhibits postharvest phytopathogens and requires efflux for *Penicillium* tolerance.” *Phytopathology* 112 (5): 1165–74.
- Bashir, U., S. Javed, W. Anwar, K. Nawaz, and R. Hafeez. 2017. “First report of *Penicillium polonicum* causing blue mold on stored garlic (*Allium sativum*) in Pakistan.” *Plant Disease* 101 (6): 1037.
- Basson, Elaine, Julia C. Meitz-Hopkins, and Cheryl L. Lennox. 2019. “Morphological and molecular identification of fungi associated with South African apple core rot.” *European Journal of Plant Pathology* 153 (3): 849–68.
- Bateman, D F, and S V Beer. 1965. “Simultaneous production and synergistic action of oxalic acid and polygalacturonase during pathogenesis by *Sclerotium rolfsii*.” *Phytopathology* 55 (February): 204–11.
- Batta, Yacoub A. 2006. “Quantitative postharvest contamination and transmission of *Penicillium expansum* (Link) conidia to nectarine and pear fruit by *Drosophila melanogaster* (Meig.) adults.” *Postharvest Biology and Technology* 40 (2): 190–96.
- Bautista-Baños, Silvia, ed. 2014. *Postharvest Decay, Control Strategies*. 1st ed. Amsterdam: Elsevier (Academic Press).
- Bavaro, Simona L., Antonia Susca, Jens C. Frisvad, Maria Tufariello, Agathi Chytiri, Giancarlo Perrone, Giovanni Mita, Antonio F. Logrieco, and Gianluca Bleve. 2017. “Isolation, characterization, and selection of molds associated to fermented black table olives.” *Frontiers in Microbiology* 8 (July): 1356.
- Beekman, Andrew M., and Russell A. Barrow. 2014. “Fungal metabolites as pharmaceuticals.” *Australian Journal of Chemistry* 67 (6): 827.
- Begerow, Dominik, Henrik Nilsson, Martin Unterseher, and Wolfgang Maier. 2010. “Current state and perspectives of fungal DNA barcoding and rapid identification procedures.” *Applied Microbiology and Biotechnology* 87 (1): 99–108.
- Behr, Marc, Sylvain Legay, and Danièle Evers. 2013. “Molecular identification of *Botrytis cinerea*, *Penicillium* spp. and *Cladosporium* spp. in Luxembourg.” *OENO One* 47 (4): 239–47.
- Benjamin, Chester R. 1955. “Ascocarps of *Aspergillus* and *Penicillium*.” *Mycologia* 47 (5): 669.
- Benkhemmar, O., H. Lahlou, J. Dupont, G. Bompeix, C. Boubekri, and H. El Mniai. 1993. “Identification of different species of *Penicillium* causing deterioration of the Moroccan table

- grapes during storage.” *Mycopathologia* 124 (1): 27–30.
- Bennett, J W, and M Klich. 2003. “Mycotoxins.” *Clinical Microbiology Reviews* 16 (3): 497–516.
- Bentley, Ronald. 2000. “Mycophenolic acid: A one hundred year odyssey from antibiotic to immunosuppressant.” *Chemical Reviews* 100 (10): 3801–26.
- Berbee, Mary L, Atsuko Yoshimura, Junta Sugiyama, and John W Taylor. 1995. “Is *Penicillium* monophyletic? An evaluation of phylogeny in the family *Trichocomaceae* from 18S, 5.8S and ITS ribosomal DNA sequence data.” *Mycologia* 87 (2): 210–22.
- Bernstein, Robert S., William G. Sorenson, David Garabrant, Charles Reaux, and Robert D. Treitman. 1983. “Exposures to respirable, airborne *Penicillium* from a contaminated ventilation system: Clinical, environmental and epidemiological aspects.” *American Industrial Hygiene Association Journal* 44 (3): 161–69.
- Berny, J. F., and G. L. Hennebert. 1990. “Variants of *Penicillium expansum*: an analysis of cultural and microscopic characters as taxonomic criteria.” In *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification*, edited by R.A. Samson and J.I. Pitt, 49–65. Boston, MA: Springer US.
- Bertolini, P., and S.P. Tian. 1996. “Low-temperature biology and pathogenicity of *Penicillium hirsutum* on garlic in storage.” *Postharvest Biology and Technology* 7 (1–2): 83–89.
- Bi, Fangcheng, Shiri Barad, Dana Ment, Neta Luria, Amit Dubey, Virginia Casado, Nofar Glam, et al. 2016. “Carbon regulation of environmental pH by secreted small molecules that modulate pathogenicity in phytopathogenic fungi.” *Molecular Plant Pathology* 17 (8): 1178–95.
- Bladt, Tanja, Jens Frisvad, Peter Knudsen, and Thomas Larsen. 2013. “Anticancer and antifungal compounds from *Aspergillus*, *Penicillium* and other filamentous fungi.” *Molecules* 18 (9): 11338–76.
- Blakeslee, Albert Francis. 1915. “Lindner’s Roll Tube Method of Separation Cultures.” *Phytopathology* 5 (1): 68–69.
- Bodinaku, Ina, Jason Shaffer, Allison B. Connors, Jacob L. Steenwyk, Megan N. Biango-Daniels, Erik K. Kastman, Antonis Rokas, Albert Robbat, and Benjamin E. Wolfe. 2019. “Rapid phenotypic and metabolomic domestication of wild *Penicillium* molds on cheese.” Edited by John W. Taylor. *MBio* 10 (5).
- Borecka, H. 1977. “Fungi of the genus *Penicillium* on apples and pears during the storage period.” *Acta Agrobotanica* 30 (2): 213–27.
- Bourne, Malcolm C. 1979. “Texture of temperate fruits.” *Journal of Texture Studies* 10 (1): 25–44.
- Boysen, Marianne, Pernille Skouboe, Jens Frisvad, and Lone Rossen. 1996. “Reclassification of the *Penicillium roqueforti* group into three species on the basis of molecular genetic and biochemical profiles.” *Microbiology* 142 (3): 541–49.
- Bradner, J. Ron, Philip J. L. Bell, V. S. Junior Te’o, and K. M. Helena Nevalainen. 2003. “The application of PCR for the isolation of a lipase gene from the genomic DNA of an Antarctic microfungus.” *Current Genetics* 44 (4): 224–30.
- Bradshaw, Michael J., Holly P. Bartholomew, Franz Lichtner, Verneta L. Gaskins, and Wayne M. Jurick. 2022. “First report of blue mold caused by *Penicillium polonicum* on apple in the United States.” *Plant Disease* 106(2): 762.

- Bridge, P.D., D.L. Hawksworth, Z. Kozakiewicz, A.H.S. Onions, and R.R.M. Paterson. 1986. "Morphological and biochemical variation in single isolates of *Penicillium*." *Transactions of the British Mycological Society* 87 (3): 389–96.
- Bridge, P. D., L. Hudson, Z. Kozakiewicz, A. H. S. Onions, and R. R. M. Paterson. 1987. "Investigation of variation in phenotype and DNA content between single-conidium isolates of single *Penicillium* strains." *Microbiology* 133 (4): 995–1004.
- Brown, Allan G., Terry C. Smale, Trevor J. King, Rainer Hasenkamp, and Ronald H. Thompson. 1976. "Crystal and molecular structure of compactin, a new antifungal metabolite from *Penicillium brevicompactum*." *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, no. 11: 1165–70.
- Çakır, E., and S. Maden. 2015. "First report of *Penicillium polonicum* causing storage rots of onion bulbs in Ankara province, Turkey." *New Disease Reports* 32 (1): 24–24.
- Cal, A., E. M.-Sagasta, and P. Melgarejo. 1990. "Biological control of peach twig blight (*Monilinia laxa*) with *Penicillium frequentans*." *Plant Pathology* 39 (4): 612–18.
- Cal, A. De, C. Redondo, A. Sztejnberg, and P. Melgarejo. 2008. "Biocontrol of powdery mildew by *Penicillium oxalicum* in open-field nurseries of strawberries." *Biological Control* 47 (1): 103–7.
- Camiletti, Boris X., Claudia M. Asensio, María de la Paz Giménez de la Pecci, and Enrique I. Lucini. 2014. "Natural control of corn postharvest fungi *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. using essential oils from plants grown in Argentina." *Journal of Food Science* 79 (12): M2499–2506.
- Cao, Cunwei, Liyan Xi, and Vishnu Chaturvedi. 2019. "Talaromycosis (Penicilliosis) Due to *Talaromyces (Penicillium) marneffeii*: Insights into the clinical trends of a major fungal disease 60 years after the discovery of the pathogen." *Mycopathologia* 184 (6): 709–20.
- Cavagnaro, Pablo F., Alejandra Camargo, Ricardo J. Piccolo, Sandra García Lampasona, Jose L. Burba, and Ricardo W. Masuelli. 2005. "Resistance to *Penicillium hirsutum* Dierckx in garlic accessions." *European Journal of Plant Pathology* 112 (2): 195–99.
- Chamekh, Rajaa, Franck Deniel, Christelle Donot, Jean-Luc Jany, Patrice Nodet, and Lakhder Belabid. 2019. "Isolation, identification and enzymatic activity of halotolerant and halophilic fungi from the Great Sebkh of Oran in northwestern of Algeria." *Mycobiology* 47 (2): 230–41.
- Chan, Jasper FW, Susanna KP Lau, Kwok-Yung Yuen, and Patrick CY Woo. 2016. "*Talaromyces (Penicillium) marneffeii* infection in non-HIV-infected patients." *Emerging Microbes & Infections* 5 (1): 1–9.
- Chatterton, Syama, Andrew C. Wylie, and Zamir K. Punja. 2012. "Fruit infection and postharvest decay of greenhouse tomatoes caused by *Penicillium* species in British Columbia." *Canadian Journal of Plant Pathology* 34 (4): 524–35.
- Chaudhary, Shivani, Ajay Shankar, Anjali Singh, and Vishal Prasad. 2018. "Usefulness of *Penicillium* in enhancing plants resistance to abiotic stresses." In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, 277–84. Elsevier.
- Chávez, Renato, Paulina Bull, and Jaime Eyzaguirre. 2006. "The xylanolytic enzyme system from the genus *Penicillium*." *Journal of Biotechnology* 123 (4): 413–33.

- Chen, A.J., L.F. Huang, L.Z. Wang, D. Tang, F. Cai, and W.W. Gao. 2011. "Occurrence of toxigenic fungi in ochratoxin A contaminated liquorice root." *Food Additives & Contaminants: Part A* 28 (8): 1091–97.
- Chen, Amanda, Xiaolin Jiao, Yongjian Hu, Xiaohong Lu, and Weiwei Gao. 2015. "Mycobiota and mycotoxins in traditional medicinal seeds from China." *Toxins* 7 (10): 3858–75.
- Chen, Kai, Zhonghuan Tian, Lan Wang, and Chao-an Long. 2017. "Development of specific primers based on the genomes of *Penicillium* spp. for rapid detection of *Penicillium digitatum* among fungal isolates in citrus." *European Journal of Plant Pathology* 149 (1): 201–9.
- Chen, L. S., Y. J. Liu, S. W. Xu, Y. L. Chen, M. J. Chen, and L. J. Zhou. 2017. "First report of *Penicillium polonicum* causing blue mold on stored *Polygonatum cyrtoneuma* in China." *Plant Disease* 101 (12): 2149.
- Chen, Yong, Boqiang Li, Xiaodi Xu, Zhanquan Zhang, and Shiping Tian. 2018. "The pH-responsive PacC transcription factor plays pivotal roles in virulence and patulin biosynthesis in *Penicillium expansum*." *Environmental Microbiology* 20 (11): 4063–78.
- Cheng, Yulin, Yunlong Lin, Haohao Cao, and Zhengguo Li. 2020. "Citrus postharvest green mold: Recent advances in fungal pathogenicity and fruit resistance." *Microorganisms* 8 (3): 449.
- Christensen, Martha, J.C. Frisvad, and Dorothy Tuthill. 1999. "Taxonomy of the *Penicillium miczynskii* group based on morphology and secondary metabolites." *Mycological Research* 103 (5): 527–41.
- Christensen, Martha, Jens Frisvad, and Dorothy Tuthill. 2000. "*Penicillium* species diversity in soil and some taxonomic and ecological notes." In *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*, edited by Robert A. Samson and John I. Pitt, 1st ed., 309–20. Harwood Academic Publishers.
- Ciegler, A., and J. I. Pitt. 1970. "Survey of the genus *Penicillium* for tremorgenic toxin production." *Mycopathologia et Mycologia Applicata* 42 (1–2): 119–24.
- Cole, A L J, and R K S Wood. 1970. "The infection of oranges by *Trichoderma viride* and mixed infection by *Trichoderma viride* and *Penicillium digitatum*." *Annals of Applied Biology* 66 (1): 75–82.
- Crous, Pedro W., J.M. Verkley, Gerard, Johannes Z. Groenewald, and Robert A. Samson, eds. 2009. *Fungal Biodiversity. CBS Laboratory Manual Series*. 1st ed. Utrecht: Westerdijk Fungal Biodiversity Institute.
- Crous, P. W., D.A. Cowan, G. Maggs-Kölling, N. Yilmaz, E. Larsson, C. Angelini, T.E. Brandrud, et al. 2020. "Fungal planet description sheets: 1112–1181." *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 45 (1): 251–409.
- Cunningham, N M, and P D Taverner. 2007. "Efficacy of integrated postharvest treatments against mixed inoculations of *Penicillium digitatum* and *Geotrichum citri-aurantii* in 'Leng' navel oranges (*Citrus sinensis*)." *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 35 (2): 187–92.
- D'Antonio, Domenico, Beatrice Violante, Claudio Farina, Rocco Sacco, Domenico Angelucci, Maurizio Masciulli, Antonio Iacone, and Ferdinando Romano. 1997. "Necrotizing pneumonia caused by *Penicillium chrysogenum*." *Journal of Clinical Microbiology* 35 (12): 3335–37.
- Deng, Zhoulun, Jorge L. Ribas, Dean W. Gibson, and Daniel H. Connor. 1988. "Infections caused

by *Penicillium marneffe* in China and Southeast Asia: Review of eighteen published cases and report of four more Chinese cases.” *Clinical Infectious Diseases* 10 (3): 640–52.

- Dhakar, Kusum, Avinash Sharma, and Anita Pandey. 2014. “Cold, pH and Salt tolerant *Penicillium* spp. inhabit the high altitude soils in Himalaya, India.” *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 30 (4): 1315–24.
- Dierckx, François. 1901. “Essai de révision du genre *Penicillium* Link. Note préliminaire.” *Annales de La Société Scientifique de Bruxelles* 25 (1): 83–88.
- Dimić, Gordana, Suncica Kocić-Tanackov, Aleksandra Tepić, Biserka Vujičić, and Zdravko Šumić. 2008. “Mycopopulation of spices.” *Acta Periodica Technologica* 39: 1–9. <https://doi.org/10.2298/APT0839001D>.
- Does, H. Charlotte van der, and Martijn Rep. 2017. “Adaptation to the host environment by plant-pathogenic fungi.” *Annual Review of Phytopathology* 55 (1): 427–50.
- Donoso, Andrés, and Bernardo A. Latorre. 2006. “Characterization of blue mold caused by *Penicillium* spp. in cold stored table grapes.” *Ciencia e Investigación Agraria* 33 (2): 119–30.
- Droby, S., A. Eick, D. Macarasin, L. Cohen, G. Rafael, R. Stange, G. McColum, et al. 2008. “Role of citrus volatiles in host recognition, germination and growth of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*.” *Postharvest Biology and Technology* 49 (3): 386–96.
- Drusch, S., and W. Ragab. 2003. “Mycotoxins in fruits, fruit juices, and dried fruits.” *Journal of Food Protection* 66 (8): 1514–27.
- Duduk, N., M. Vasić, and I. Vico. 2014. “First report of *Penicillium polonicum* causing blue mold on stored onion (*Allium cepa*) in Serbia.” *Plant Disease* 98 (10): 1440–1440.
- Duduk, Nataša, Marina Lazarević, Aleksandra Žebeljan, Miljan Vasić, and Ivana Vico. 2017. “Blue mould decay of stored onion bulbs caused by *Penicillium polonicum*, *P. glabrum* and *P. expansum*.” *Journal of Phytopathology* 165 (10): 662–69.
- Duduk, N., F. Bekčić, A. Žebeljan, N. Vučković, and I. Vico. 2021. “First report of blue mold caused by *Penicillium crustosum* on nectarine fruit in Serbia.” *Plant Disease* 105 (2): 487.
- Dugan, Frank M, and Rodney G Roberts. 1994. “Etiology of preharvest colonization of bing cherry fruit by fungi.” *Phytopathology* 84 (10): 1031–36.
- Dugan, Frank M., Barbara C. Hellier, and Shari L. Lupien. 2011. “Resistance to *Penicillium allii* in accessions from a National Plant Germplasm System *Allium* collection.” *Crop Protection* 30 (4): 483–88.
- Dugan, F.M., S.L. Lupien, C.M. Vahling-Armstrong, G.A. Chastagner, and B.K. Schroeder. 2014. “Host ranges of North American isolates of *Penicillium* causing blue mold of bulb crops.” *Crop Protection* 64 (October): 129–36.
- . 2017. “Host Ranges of *Penicillium* species causing blue mold of bulb crops in Washington State and Idaho.” *Crop Protection* 96 (June): 265–72.
- Dupont, Joëlle, Bruno Dennerière, Claire Jacquet, and Marie-France Roquebert. 2006. “PCR-RFLP of ITS rDNA for the rapid identification of *Penicillium* subgenus *Biverticillium* species.” *Revista Iberoamericana de Micología* 23 (3): 145–50.
- Dutot, M, L M Nelson, and R C Tyson. 2013. “Predicting the spread of postharvest disease in stored

- fruit, with application to apples.” *Postharvest Biology and Technology* 85: 45–56.
- Dutta, B. K. 1981. “Studies on some fungi isolated from the rhizosphere of tomato plants and the consequent prospect for the control of *Verticillium* wilt.” *Plant and Soil* 63 (2): 209–16.
- Eckert, Joseph W., and Malinie Ratnayake. 1983. “Host-pathogen interactions in postharvest diseases.” In *Post-Harvest Physiology and Crop Preservation*, 247–64. Boston, MA: Springer US.
- Eckert, J. W., and M. Ratnayake. 1994. “Role of volatile compounds from wounded oranges in induction of germination of *Penicillium digitatum* conidia.” *Phytopathology* 84 (7): 746–50.
- El-Dawy, Eman Gamal Abd Elnaser Mohamed, Youssuf Ahmed Gherbawy, Sabry Hassan, and Mohamed Ahmed Hussein. 2021. “Molecular identification of *Penicillium* sp. isolated from citrus fruits.” *Current Microbiology* 78 (5): 1981–90.
- El-Gendy, Mervat Morsy Abbas Ahmed, Shaymaa M. M. Yahya, Ahmed R. Hamed, Maha M. Soltan, and Ahmed Mohamed Ahmed El-Bondkly. 2018. “Phylogenetic analysis and biological evaluation of marine endophytic fungi derived from Red Sea sponge *Hyrtios erectus*.” *Applied Biochemistry and Biotechnology* 185 (3): 755–77.
- Elsunni, Muammer Abdelwahed, and Zhong-Duo Yang. 2018. “Secondary metabolites of the endophytic fungi *Penicillium polonicum* and their monoamine oxidase inhibitory activity.” *Chemistry of Natural Compounds* 54 (5): 1018–19.
- Endo, Akira, Masao Kuroda, and Yoshio Tsujita. 1976. “ML-236A, ML-236B, and ML-236C, New inhibitors of cholesterol synthesis produced by *Penicillium citrinum*.” *The Journal of Antibiotics* 29 (12): 1346–48.
- Errampalli, Deena. 2014. “*Penicillium expansum* (Blue mold).” In *Postharvest Decay, Control Strategies*, edited by Silvia B T - Postharvest Decay Bautista-Baños, 189–231. San Diego: Academic Press.
- Faedda, R., A. Pane, S.O. Cacciola, G. Granata, L. Salafia, and F. Sinatra. 2015. “*Penicillium polonicum* causing a postharvest soft rot of cactus pear fruits.” *Acta Horticulturae*, no. 1067 (January): 193–97.
- Fahima, T., and Y. Henis. 1995. “Quantitative assessment of the interaction between the antagonistic fungus *Talaromyces flavus* and the wilt pathogen *Verticillium dahliae* on eggplant roots.” *Plant and Soil* 176 (1): 129–37.
- Fajola, A. O. 1979. “The Post-harvest fruit rots of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in Nigeria.” *Food / Nahrung* 23 (2): 105–9.
- Fan, Xiaolian, and Michael Mattey. 1999. “Small enzymes with esterase activities from two thermophilic fungi, *Emericella nidulans* and *Talaromyces emersonii*.” *Biotechnology Letters* 21 (12): 1071–76.
- Farr, David F., and Rossman, Amy Y. “Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections.” ARS, USDA. Accessed February 24th 2022. <https://nt.ars-grin.gov/fungal-databases/>
- Fassatiova, Olga. 1977. “A Taxonomic study of *Penicillium* series *Expansa* Thom emend. Fassatiova.” *Acta Universitatis Carolinae-Biologica* 12: 283–335.
- Felšöciová, Soňa, Ľubomír Rybárik, Dana Tančinová, Zuzana Mašková, and Miroslava Kačániová. 2015. “Microfungi and mycotoxins of grapes from Tokaj wine region.” *Journal of*

- Fernández-Cruz, María L., Marcia L. Mansilla, and José L. Tadeo. 2010. "Mycotoxins in fruits and their processed products: analysis, occurrence and health implications." *Journal of Advanced Research* 1 (2): 113–22.
- Filtenborg, Ole, Jens C Frisvad, and Jytte A Svendsen. 1983. "Simple screening method for molds producing intracellular mycotoxins in pure cultures." *Applied and Environmental Microbiology* 45 (2): 581–85.
- Finkelstein, Eve, Boaz Amichai, and Marcelo H. Grunwald. 1996. "Griseofulvin and its uses." *International Journal of Antimicrobial Agents* 6 (4): 189–94.
- Fleming, Alexander. 1929. "On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*." *British Journal of Experimental Pathology* 10 (3): 226–36.
- Frisvad, Jens C. 1981. "Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric *Penicillia*." *Applied and Environmental Microbiology* 41 (3): 568–79.
- Frisvad, Jens C. 1986a. "Classification of asymmetric *Penicillia* using expressions of differentiation." In *Advances in Penicillium and Aspergillus Systematics*, edited by Robert A. Samson and John I. Pitt, 327–35. Boston, MA: Springer US.
- . 1986b. "Profiles of primary and secondary metabolites of value in classification of *Penicillium viridicatum* and related species." In *Advances in Penicillium and Aspergillus Systematics*, edited by Robert A. Samson and John I. Pitt, 311–25. Springer US.
- Frisvad, Jens C., and Ulf Thrane. 1987. "Standardized high-performance liquid chromatography of 182 mycotoxins and other fungal metabolites based on alkylphenone retention indices and UV-VIS spectra (diodearray detection)." *Journal of Chromatography A* 404 (January): 195–214.
- Frisvad, Jens C, and Ole Filtenborg. 1989. "Terverticillate *Penicillia*: Chemotaxonomy and mycotoxin production." *Mycologia* 81 (6): 837–61.
- Frisvad, Jens C, Robert A. Samson, Birgitte R Rassing, Marjolein I van der Horst, F T J van Rijn, and J Stark. 1997. "*Penicillium discolor*, a new species from cheese, nuts and vegetables." *Antonie van Leeuwenhoek* 72 (2): 119–26.
- Frisvad, Jens Christian, Ole Filtenborg, Eiliv Lund, and Robert A. Samson. 2000. "The homogeneous species and series in subgenus *Penicillium* are related to mammal nutrition and excretion." In *Integration of Modern Taxonomic Methods for Aspergillus and Penicillium Classification*, edited by Robert A Samson and John I. Pitt, 259–77. Amsterdam, the Netherlands: Harwood Academic Publishers.
- Frisvad, Jens C, and Robert A Samson. 2004. "Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*: A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins." *Studies in Mycology* 49: 1–173.
- Frisvad, Jens C, Jørn Smedsgaard, Thomas O Larsen, and Robert A Samson. 2004. "Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*." *Studies in Mycology* 49:201-241.
- Frisvad, Jens C., Thomas O. Larsen, Petur W. Dalsgaard, Keith A. Seifert, Gerry Louis-Seize, E. K. Lyhne, Bruce B. Jarvis, James C. Fettinger, and David P. Overy. 2006. "Four psychrotolerant species with high chemical diversity consistently producing cycloaspeptide A, *Penicillium*

jamesonlandense sp. nov., *Penicillium ribium* sp. nov., *Penicillium soppii* and *Penicillium lanosum*.” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56 (6): 1427–37.

Frisvad, Jens C, Ulf Thrane, Robert A Samson, and John I Pitt. 2006. “Important mycotoxins and the fungi which produce them.” In *Advances in Food Mycology*, edited by A D Hocking, J I Pitt, Robert A Samson, and U Thrane, 3–31. Boston, MA: Springer US.

Frisvad, J.C. 2018. “A critical review of producers of small lactone mycotoxins: Patulin, penicillic acid and moniliformin.” *World Mycotoxin Journal* 11 (1): 73–100.

Frisvad, Jens C, Neriman Yilmaz, Ulf Thrane, Kasper Bøwig Rasmussen, Jos Houbraken, and Robert A Samson. 2013. “*Talaromyces atroroseus*, a new species efficiently producing industrially relevant red pigments.” *PLOS ONE* 8 (12): e84102.

Fujii, Tatsuya, Tamotsu Hoshino, Hiroyuki Inoue, and Shinichi Yano. 2014. “Taxonomic revision of the cellulose-degrading fungus *Acremonium cellulolyticus* nomen nudum to *Talaromyces* based on phylogenetic analysis.” *FEMS Microbiology Letters* 351 (1): 32–41.

Fujii, Tatsuya, Hiroyuki Inoue, Shinichi Yano, and Shigeki Sawayama. 2018. “Strain improvement for industrial production of lignocellulolytic enzyme by *Talaromyces cellulolyticus*.” In *Fungal Cellulolytic Enzymes*, edited by Xu Fang and Qu Yinbo, 135–54. Singapore: Springer

Gálvez, Laura, and Daniel Palmero. 2021. “Incidence and etiology of postharvest fungal diseases associated with bulb rot in garlic (*Allium sativum*) in Spain.” *Foods* 10 (5): 1063. <https://doi.org/10.3390/foods10051063>.

Garcha, Harnek Singh, and Vapinder Singh. 1976. “*Penicillium crustosum*, a new pathogen of *Citrus reticulata* (Mandarin) from India.” *Plant Disease Reporter* 60 (3): 252–54.

Gharamah, AA, AM Moharram, MA Ismail, and AK AL-Hussaini. 2012. “Bacterial and fungal endophthalmitis in Upper Egypt: related species and risk factors.” *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2 (8): 655–59.

Ghuffar, S., G. Irshad, F. Naz, H. B. Rosli, S. Hyder, N. Mehmood, M. A. Zeshan, M. M. Raza, C. G. Mayer, and M. L. Gleason. 2018. “First report of two *Penicillium* spp. causing postharvest fruit rot of grapes in Pakistan.” *Plant Disease* 102 (5): 1037–1037.

Giraud, Frédéric, Tatiana Giraud, Gabriela Aguilera, Elisabeth Fournier, Robert Samson, Corine Cruaud, Sandrine Lacoste, Jeanne Ropars, Aurélien Tellier, and Joëlle Dupont. 2010. “Microsatellite loci to recognize species for the cheese starter and contaminating strains associated with cheese manufacturing.” *International Journal of Food Microbiology* 137 (2–3): 204–13.

Glass, N L, and G C Donaldson. 1995. “Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous *Ascomycetes*.” *Applied and Environmental Microbiology* 61 (4): 1323–30.

Gouba, Nina, Didier Raoult, and Michel Drancourt. 2013. “Plant and fungal diversity in gut microbiota as revealed by molecular and culture investigations.” Edited by Yolanda Sanz. *PLoS ONE* 8 (3): e59474.

Grantina-Ievina, Lelde, Kristine Kenigvalde, Daina Eze, Zaiga Petrina, Ilze Skrabule, Nils Rostoks, and Vizma Nikolajeva. 2011. “Impact of six-year-long organic cropping on soil microorganisms and crop disease suppressiveness.” *Žemdirbystē-Agriculture* 98 (4): 399–408.

- Guarro, Josep, Josepa Gené, and Alberto M Stchigel. 1999. "Developments in fungal taxonomy." *Clinical Microbiology Reviews* 12 (3): 454–500.
- Guerche, Stéphane La, Carole Garcia, Philippe Darriet, Denis Dubourdieu, and Jacques Labarère. 2004. "Characterization of *Penicillium* species isolated from grape berries by their internal transcribed spacer (ITS1) sequences and by gas chromatography-mass spectrometry analysis of geosmin production." *Current Microbiology* 48 (6): 405–11.
- Guevara-Suarez, Marcela, Deanna A. Sutton, José F. Cano-Lira, Dania García, Adela Martín-Vicente, Nathan Wiederhold, Josep Guarro, and Josepa Gené. 2016. "Identification and antifungal susceptibility of *Penicillium*-Like fungi from clinical samples in the United States." Edited by D. J. Diekema. *Journal of Clinical Microbiology* 54 (8): 2155–61.
- Guevara-Suarez, Marcela, Deanna A. Sutton, Josepa Gené, Dania García, Nathan Wiederhold, Josep Guarro, and José F. Cano-Lira. 2017. "Four new species of *Talaromyces* from clinical sources." *Mycoses* 60 (10): 651–62.
- Guijarro, Belén, Inmaculada Larena, Paloma Melgarejo, and Antonieta De Cal. 2017. "Adaptive conditions and safety of the application of *Penicillium frequentans* as a biocontrol agent on stone fruit." *International Journal of Food Microbiology* 254 (August): 25–35.
- Guo, Li-Na, Shu-Ying Yu, Yao Wang, Ya-Li Liu, Ying Yuan, Si-Meng Duan, Wen-Hang Yang, et al. 2021. "Species distribution and antifungal susceptibilities of clinical isolates of *Penicillium* and *Talaromyces* species in China." *International Journal of Antimicrobial Agents* 58 (1): 106349.
- Gutarra, Melissa L.E., Mateus G. Godoy, Francisco Maugeri, Maria Isabel Rodrigues, Denise M.G. Freire, and Leda R. Castilho. 2009. "Production of an acidic and thermostable lipase of the mesophilic fungus *Penicillium simplicissimum* by solid-state fermentation." *Bioresource Technology* 100 (21): 5249–54.
- Habib, Wassim, Mario Masiello, Hala Chahine-Tsouvalakis, Zahraa Al Moussawi, Carine Saab, Salwa Tohmé Tawk, Luca Piemontese, et al. 2021. "Occurrence and characterization of *Penicillium* species isolated from post-harvest apples in Lebanon." *Toxins* 13 (10): 730.
- Hadas, Yoav, Israel Goldberg, Ophry Pines, and Dov Prusky. 2007. "Involvement of gluconic acid and glucose oxidase in the pathogenicity of *Penicillium expansum* in apples." *Phytopathology* 97 (3): 384–90.
- Hajj Assaf, Christelle El, Selma P. Snini, Souria Tadriss, Sylviane Bailly, Claire Naylies, Isabelle P. Oswald, Sophie Lorber, and Olivier Puel. 2018. "Impact of *veA* on the development, aggressiveness, dissemination and secondary metabolism of *Penicillium expansum*." *Molecular Plant Pathology* 19 (8): 1971–83.
- Harwig, Joost, Peter M Scott, Douglas R Stoltz, and Burke J Blanchfield. 1979. "Toxins of molds from decaying tomato fruit." *Applied and Environmental Microbiology* 38 (2): 267–74.
- Hawksworth, David. 2011. "A new dawn for the naming of fungi: impacts of decisions made in Melbourne in July 2011 on the future publication and regulation of fungal names." *IMA Fungus* 2: 155–62.
- Hennebert, Grégoire L. 1986. "Dierckx' contribution to the genus *Penicillium*." In *Advances in Penicillium and Aspergillus Systematics. NATO ASI Series, Vol 102.*, edited by R.A. Samson and J.I. Pitt, 9–21. Boston, MA: Springer US.

- Heo, Inbeom, Kyeongyeon Hong, Hyejin Yang, Hyang Burm Lee, Young-Joon Choi, and Seung-Beom Hong. 2019. "Diversity of *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Talaromyces* species isolated from freshwater environments in Korea." *Mycobiology* 47 (1): 12–19.
- Heperkan, Dilek, Necla Aran, and Mahmut Ayfer. 1994. "Mycoflora and aflatoxin contamination in shelled pistachio nuts." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 66 (3): 273–78.
- Heperkan, Dilek, Burçak E. Meriç, Gölçin Sismanoglu, Gözde Dalkiliç, and Funda K. Güler. 2006. "Mycobiota, mycotoxigenic fungi, and citrinin production in black olives." In *Advances in Food Mycology. Advances in Experimental Medicine and Biology, Vol 571*, edited by Ailsa D Hocking, John I. Pitt, Robert A. Samson, and Ulf Thrane, 203–10. Boston, MA: Springer.
- Hien, T. V., P. P. Loc, N. T. T. Hoa, N. M. Duong, V. M. Quang, M. M. McNeil, N. T. Dung, and D. A. Ashford. 2001. "First cases of disseminated penicilliosis Marneffeii infection among patients with acquired immunodeficiency syndrome in Vietnam." *Clinical Infectious Diseases* 32 (4): e78–80.
- Holmes, G J, and J W Eckert. 1999. "Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California." *Phytopathology* 89 (9): 716–21.
- Hong, Seung-Beom, Hye-Sun Cho, Hyeon-Dong Shin, Jens C Frisvad, and Robert A Samson. 2006. "Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56 (2): 477–86.
- Hoog, G S de, and A H G Gerrits van den Ende. 1998. "Molecular diagnostics of clinical strains of filamentous *Basidiomycetes*." *Mycoses* 41 (5-6): 183–89.
- Horré, R, S Gilges, P Breig, B Kupfer, G S De Hoog, E Hoekstra, N Poonwan, and K P Schaal. 2001. "Case Report. Fungaemia due to *Penicillium piceum*, a member of the *Penicillium marneffeii* complex." *Mycoses* 44 (11–12): 502–4.
- Houbraken, J, and R A Samson. 2011. "Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families." *Studies in Mycology* 70 (1): 1–51.
- Houbraken, J, J C Frisvad, and R A Samson. 2011a. "Taxonomy of *Penicillium* section *Citrina*." *Studies in Mycology* 70 (1): 53–138.
- Houbraken, Jos, Jens C Frisvad, and Robert A Samson. 2011b. "Fleming's penicillin producing strain is not *Penicillium chrysogenum* but *P. rubens*." *IMA Fungus* 2 (1): 87–95.
- Houbraken, Jos. 2013. "Revealing relationships in *Trichocomaceae*, with emphasis on *Penicillium*." PhD Diss., Utrecht University, Utrecht, The Netherlands.
- Houbraken, J., S. Kocsubé, C.M. Visagie, N. Yilmaz, X.-C. Wang, M. Meijer, B. Kraak, et al. 2020. "Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (*Eurotiales*): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species." *Studies in Mycology* 95 (March): 5–169.
- Hujšlová, Martina, Alena Kubátová, Milada Chudíčková, and Miroslav Kolařík. 2010. "Diversity of fungal communities in saline and acidic soils in the Soos national natural reserve, Czech Republic." *Mycological Progress* 9 (1): 1–15.
- Icenhour, Crystal R., and Estelle Levetin. 1997. "*Penicillium* and *Aspergillus* species in the habitats of allergy patients in the Tulsa, Oklahoma Area." *Aerobiologia* 13 (3): 161–66.
- Ikotun, T. 1984. "Cell wall-degrading enzymes produced by *Penicillium oxalicum* Curie et Thom."

Mycopathologia 88 (1): 15–21.

- Inglis, G D, and L M Kawchuk. 2002. “Comparative degradation of oomycete, ascomycete, and basidiomycete cell walls by mycoparasitic and biocontrol Fungi.” *Canadian Journal of Microbiology* 48 (1): 60–70.
- Jayawardena, Ruvishika S., Witoon Purahong, Wei Zhang, Tesfaye Wubet, XingHong Li, Mei Liu, Wensheng Zhao, Kevin D. Hyde, JianHua Liu, and Jiye Yan. 2018. “Biodiversity of fungi on *Vitis vinifera* L. revealed by traditional and high-resolution culture-independent approaches.” *Fungal Diversity* 90 (1): 1–84.
- Jensen, Birgit, Inge M.B. Knudsen, Birgitte Andersen, Kristian Fog Nielsen, Ulf Thrane, Dan Funck Jensen, and John Larsen. 2013. “Characterization of microbial communities and fungal metabolites on field grown strawberries from organic and conventional production.” *International Journal of Food Microbiology* 160 (3): 313–22.
- Jiao, Wenxiao, Xin Liu, Youyuan Li, Boqiang Li, Yamin Du, Zhanquan Zhang, Qingmin Chen, and Maorun Fu. 2022. “Organic acid, a virulence factor for pathogenic fungi, causing postharvest decay in fruits.” *Molecular Plant Pathology* 23 (2): 304–12.
- Johnston, Candice Leigh. 2008. “Identification of *Penicillium* species in the South African litchi export chain.” Master thesis. University of Pretoria, Pretoria, South Africa.
- Jurick, Wayne M, Ivana Vico, James L Mcevoy, Bruce D Whitaker, Wojciech Janisiewicz, and William S Conway. 2009. “Isolation, purification, and characterization of a polygalacturonase produced in *Penicillium solitum*-decayed ‘Golden Delicious’ apple fruit.” *Phytopathology* 99 (6): 636–41.
- Jurick, Wayne M., Ivana Vico, Verneta L. Gaskins, Wesley M. Garrett, Bruce D. Whitaker, Wojciech J. Janisiewicz, and William S. Conway. 2010. “Purification and biochemical characterization of polygalacturonase produced by *Penicillium expansum* during postharvest decay of ‘Anjou’ Pear.” *Phytopathology* 100 (1): 42–48.
- Kačaniová, Miroslava, Vladimíra Kňazovická, Soňa Felšöciová, and Katarína Rovná. 2012. “Microscopic fungi recovered from honey and their toxinogenicity.” *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 47 (11): 1659–64.
- Kamenetsky, Rina. 2007. “Garlic: botany and horticulture.” Edited by Jules Janick. *Horticultural Reviews*. Wiley Online Books. Hoboken, New Jersey: Wiley Online Books.
- Kanashiro, Aline Midori, Daniel Yuri Akiyama, Katia Cristina Kupper, and Taícia Pacheco Fill. 2020. “*Penicillium italicum*: an underexplored postharvest pathogen.” *Frontiers in Microbiology* 11 (December): 606852.
- Kantarcioglu, A. S., H. Apaydin, A. Yucel, G. S. de Hoog, R. A. Samson, M. Vural, and S. Ozekmekci. 2004. “Central nervous system infection due to *Penicillium chrysogenum*. Fallbericht. ZNS-Infektion Durch *Penicillium chrysogenum*.” *Mycoses* 47 (5–6): 242–48.
- Karabulut, Ozgur Akgun, Lea Cohen, Batia Wiess, Avinoam Daus, Susan Lurie, and Samir Droby. 2002. “Control of brown rot and blue mold of peach and nectarine by short hot water brushing and yeast antagonists.” *Postharvest Biology and Technology* 24 (2): 103–11.
- Karabulut, O. A., and N. Baykal. 2003. “Biological control of postharvest diseases of peaches and nectarines by yeasts.” *Journal of Phytopathology* 151 (3): 130–34.
- Karaca, H., and S. Nas. 2006. “Aflatoxins, patulin and ergosterol contents of dried figs in Turkey.”

- Kazerooni, Elham A., Velazhahan Rethinasamy, and Abdullah M. Al-Sadi. 2019. “*Talaromyces pinophilus* inhibits *Pythium* and *Rhizoctonia*-Induced damping-off of cucumber.” *Journal of Plant Pathology* 101 (2): 377–83.
- Khalaf, N.F., M.J. Al-Obaidi, S.W. Mohammed, M.K. Al-Malkey, H.J. Nayyef, F.J.A. Al-Hur, F.O. Sameer, K.I. Mesheal, I.A. Taqi, and A.H. Ad’hiah. 2022. “Indoor house dust-borne fungi and risk of allergic respiratory diseases in Baghdad City.” *Revue Française d’Allergologie* 62 (4): 401–6.
- Khalil, Ahmed Mohamed Aly, Amr Hosny Hashem, and Amer Morsy Abdelaziz. 2019. “Occurrence of toxigenic *Penicillium polonicum* in retail green table olives from the Saudi Arabia market.” *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 21 (September): 101314.
- Khan, Mohammad Saghir, Almas Zaidi, Munees Ahemad, Mohammad Oves, and Pervaze Ahmad Wani. 2010. “Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi – current perspective.” *Archives of Agronomy and Soil Science* 56 (1): 73–98.
- Khodadadi, Hossein, Kamiar Zomorodian, Hasti Nouraei, Zahra Zareshahrabadi, Sajjad Barzegar, Mohammad Reza Zare, and Keyvan Pakshir. 2021. “Prevalence of superficial-cutaneous fungal infections in Shiraz, Iran: a five-year retrospective study (2015–2019).” *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 35 (7): e23850.
- Khodaei, Ali, Mahdi Arzanlou, Asadollah Babai-Ahari, and Jos Houbraken. 2016. “Five new species of *Penicillium* and *Talaromyces* for mycobiota of Iran.” *Rostaniha* 16 (2): 186–99.
- Khokhar, Ibatsam, Yang Jia, Irum Mukhtar, Junhuan Wang, and YanChun Yan. 2019. “First report of *Penicillium polonicum* causing blue mold on stored pear (*Pyrus bretschneideri*) fruits in China.” *Plant Disease* 103 (12): 3279–3279.
- Khokhar, Ibatsam, Jianming Chen, Junhuan Wang, Yang Jia, YanChun Yan, and Irum Mukhtar. 2021. “First report of postharvest blue mold decay caused by *Penicillium expansum* on lemon (*Citrus limon*) fruit in China.” *Plant Disease* 105 (11): 3747.
- Kiang, Tony K. L., and Mary H. H. Ensom. 2018. “Population pharmacokinetics of mycophenolic acid: an update.” *Clinical Pharmacokinetics* 57 (5): 547–58.
- Kidd, M. N., and A. Beaumont. 1925. “An experimental study of the fungal invasion of apples in storage with particular reference to invasion through the lenticels.” *Annals of Applied Biology* 12 (1): 14–33.
- Kim, Ji Yeun. 2011. “Molecular and morphological identification of fungal species isolated from Bealmijang meju.” *Journal of Microbiology and Biotechnology* 21 (12): 1270–79.
- Kim, Ji Yeun, Sun Young Lee, and Hye Sun Choi. 2013. “Molecular and morphological identification of fungal species isolated from rice meju.” *Food Science and Biotechnology* 22 (3): 721–28.
- Kim, Ju-Hee, Wang-Hyu Lee, Seong-Soo Cheong, Joung-Sik Choi, Jeong Ryu, and Yeong-Geun Choi. 2002. “Identification and characteristics of *Penicillium* spp. isolated from postharvest decay of pear.” *Research in Plant Disease* 8 (2): 107–12.
- Kim, Ki-Sun, Soon-Bae Kwon, Kwang-Jin Chang, Sae-Jin Hong, and Byung-Sup Kim. 2012. “Effect of curing conditions on inhibition of tuber rot in subtropical yam (*Dioscorea alata*) during storage.” *Korean Journal of Plant Resources* 25 (4): 387–93.

- Kim, Min-Jeong, Chang-Ki Shim, Yong-Ki Kim, Sung-Jun Hong, Jong-Ho Park, Eun-Jung Han, and Seok-Cheol Kim. 2017. "Enhancement of seed dehiscence by seed treatment with *Talaromyces flavus* GG01 and GG04 in Ginseng (*Panax ginseng*)." *The Plant Pathology Journal* 33 (1): 1–8.
- Kim, Won Ki, Yong-Soo Hwang, and Seung Hun Yu. 2008. "Two species of *Penicillium* associated with blue mold of yam in Korea." *Mycobiology* 36 (4): 217–221.
- Kivanç, Merih, and A. Akgül. 1990. "Mould growth on black table olives and prevention by sorbic acid, methyleugenol and spice essential oil." *Food / Nahrung* 34 (4): 369–73.
- Kocić-Tanackov, Sunčica, Gordana Dimic, Jelena Levic, Dušanka Pejin, Jelena Pejin, and Igor Jajic. 2010. "Occurrence of potentially toxigenic mould species in fresh salads of different kinds of ready-for-use vegetables." *Acta Periodica Technologica* 41: 33–45.
- Kora, C., M. R. McDonald, and G. J. Boland. 2005. "Occurrence of fungal pathogens of carrots on wooden boxes used for storage." *Plant Pathology* 54 (5): 665–70.
- Krska, Rudolf, Patricia Schubert-Ullrich, Alexandra Molinelli, Michael Sulyok, Susan MacDonald, and Colin Crews. 2008. "Mycotoxin analysis: an update." *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* 25 (2): 152–63.
- Kubátová, Alena. 2000. "Neglected *Penicillium* spp. associated with declining trees." In *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*, edited by Robert A. Samson and John I. Pitt, 1st ed., 299–307. Amsterdam, the Netherlands: Harwood Academic Publishers.
- Kumar, Dilip, Shiri Barad, Yong Chen, Xingyu Luo, Joanna Tannous, Amit Dubey, Nofar Glam Matana, et al. 2017. "*LaeA* regulation of secondary metabolism modulates virulence in *Penicillium expansum* and is mediated by sucrose." *Molecular Plant Pathology* 18 (8): 1150–63.
- Kumar, Pradeep, Mohd. Adnan Kausar, A. B. Singh, and Rajeev Singh. 2021. "Biological contaminants in the indoor air environment and their impacts on human health." *Air Quality, Atmosphere & Health* 14 (11): 1723–36.
- Kumar, Sudhir, Glen Stecher, and Koichiro Tamura. 2016. "MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets." *Molecular Biology and Evolution* 33 (7): 1870–74.
- Kushiro, Masayo. 2015. "Historical review of researches on yellow rice and mycotoxigenic fungi adherent to rice in Japan." *JSM Mycotoxins* 65 (1): 19–23.
- Kwan, EYW, YL Lau, KY Yuen, BM Jones, and LCK Low. 1997. "*Penicillium marneffe* infection in a non-HIV infected child." *Journal of Paediatrics and Child Health* 33 (3): 267–71.
- Labuda, R, K Hudec, E Piecková, J Mezey, R Bohovic, S Mátéová, and S S Lukác. 2004. "*Penicillium implicatum* causes a destructive rot of pomegranate fruits." *Mycopathologia* 157: 217–23.
- Lahlali, R, M N Serrhini, and M H Jijakli. 2005. "Studying and modelling the combined effect of temperature and water activity on the growth rate of *P. expansum*." *International Journal of Food Microbiology* 103 (3): 315–22.
- Lahlali, R., M.N. Serrhini, D. Friel, and M.H. Jijakli. 2006. "In vitro effects of water activity, temperature and solutes on the growth rate of *P. italicum* Wehmer and *P. digitatum* Sacc."

- Lamsal, Kabir, Sang Woo Kim, Shahram Naeimi, Mahesh Adhikari, Dil Raj Yadav, Changmu Kim, Hyang Burm Lee, and Youn Su Lee. 2013. “Three new records of *Penicillium* species isolated from insect specimens in Korea.” *Mycobiology* 41 (2): 116–19.
- Langlois, Daniel K., Deanna A. Sutton, Cheryl L. Swenson, Chris J. Bailey, Nathan P. Wiederhold, Nathan C. Nelson, Elizabeth H. Thompson, et al. 2014. “Clinical, morphological, and molecular characterization of *Penicillium canis* sp. nov., isolated from a dog with osteomyelitis.” Edited by D. W. Warnock. *Journal of Clinical Microbiology* 52 (7): 2447–53.
- Lavermicocca, Paola, Francesca Valerio, and Angelo Visconti. 2003. “Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products.” *Applied and Environmental Microbiology* 69 (1): 634–40.
- Lee, Chul-Hoon, Haeyoung Lim, Min Kyoung Kim, Youl-hee Cho, Deok-kun Oh, Chang-jin Kim, and Yoongho Lim. 2002. “Isolation and biological properties of novel cell cycle inhibitor, HY558, isolated from *Penicillium minioluteum* F558.” *Journal of Microbiology and Biotechnology* 12 (3): 470–75.
- Leitão, Ana Lúcia, and Francisco J. Enguita. 2016. “Gibberellins in *Penicillium* strains: challenges for endophyte-plant host interactions under salinity stress.” *Microbiological Research* 183 (February): 8–18.
- Leite Júnior, Diniz Pereira, Ana Caroline Akeme Yamamoto, Janaína Vasconcellos Ribeiro de Souza Amadio, Evelin Rodrigues Martins, Fabio Alexandre Leal Do Santos, Sara de Almeida Alves Simoes, and Rosane Christine Hahn. 2012. “*Trichocomaceae*: biodiversity of *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. residing in libraries.” *The Journal of Infection in Developing Countries* 6 (10): 734–43.
- Lelievre, Jean-Marc, Alain Latche, Brian Jones, Mondher Bouzayen, and Jean-Claude Pech. 1997. “Ethylene and fruit ripening.” *Physiologia Plantarum* 101 (4): 727–39.
- Levin, Elena, Amit Kishore, Ana Rosa Ballester, Ginat Raphael, Oleg Feigenberg, Yongsheng Liu, John Norelli, Luis Gonzalez-Candelas, Michael Wisniewski, and Samir Droby. 2019a. “Identification of pathogenicity-related genes and the role of a subtilisin-related peptidase S8 (*PePRT*) in autophagy and virulence of *Penicillium expansum* on apples.” *Postharvest Biology and Technology* 149 (March): 209–20.
- Levin, Elena, Ginat Raphael, Jing Ma, Ana-Rosa Ballester, Oleg Feygenberg, John Norelli, Radi Aly, Luis Gonzalez-Candelas, Michael Wisniewski, and Samir Droby. 2019b. “Identification and functional analysis of NLP-encoding genes from the postharvest pathogen *Penicillium expansum*.” *Microorganisms* 7 (6): 175.
- Li, Boqiang, Yong Chen, and Shiping Tian. 2022. “Function of pH-dependent transcription factor PacC in regulating development, pathogenicity, and mycotoxin biosynthesis of phytopathogenic fungi.” *The FEBS Journal* 289 (7): 1723–30.
- Li, Boqiang, Yuanyuan Zong, Zhenglin Du, Yong Chen, Zhanquan Zhang, Guozheng Qin, Wenming Zhao, and Shiping Tian. 2015. “Genomic characterization reveals insights into patulin biosynthesis and pathogenicity in *Penicillium* species.” *Molecular Plant-Microbe Interactions* 28 (6): 635–47.
- Li, Boqiang, Yong Chen, Zhanquan Zhang, Guozheng Qin, Tong Chen, and Shiping Tian. 2020. “Molecular basis and regulation of pathogenicity and patulin biosynthesis in *Penicillium*

expansum.” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 19 (6): 3416–38.

- Li, Dandan, Xiaoyun Zhang, Xiangyu Gu, Qidi Zhang, Lina Zhao, Xiangfeng Zheng, and Hongyin Zhang. 2019. “The infection of grapes by *Talaromyces rugulosus* O1 and the role of cell wall-degrading enzymes and ochratoxin A in the infection.” *Physiological and Molecular Plant Pathology* 106: 263–69.
- Li, Guan-rong, Bao-hong Cao, Wei Liu, Rui-hua Ren, Jie Feng, and Da-jin Lv. 2020. “Isolation and identification of endophytic fungi in kernels of *Coix lachrymal-jobi* L. cultivars.” *Current Microbiology* 77 (8): 1448–56.
- Li, Taotao, Dingding Shi, Qixian Wu, Chunxiao Yin, Fengjun Li, Youxia Shan, Xuewu Duan, and Yueming Jiang. 2019. “Mechanism of cell wall polysaccharides modification in harvested ‘Shatangju’ mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit caused by *Penicillium italicum*.” *Biomolecules* 9 (4): 160.
- Li, Yin, Fengjie Cui, Zhiqiang Liu, Yingying Xu, and Hui Zhao. 2007. “Improvement of xylanase production by *Penicillium oxalicum* ZH-30 using response surface methodology.” *Enzyme and Microbial Technology* 40 (5): 1381–88.
- Link, Johann Heinrich Friedrich. 1809. “Observationes in ordines plantarum naturales. Dissertatio I.” *Magazin Der Gesellschaft Naturforschenden Freunde Berlin* 3: 3–42.
- Liu, C. H. 2016. “Biological mechanisms of the spoilage mould infection of fresh-cut apple and its prevention-control by ozone.” Shenyang Agricultural University.
- Liu, Shun-Zhi, Xi-Xiang Tang, Feng-Ming He, Jian-Xin Jia, Hang Hu, Bao-Ying Xie, Ming-Yu Li, and Ying-Kun Qiu. 2020. “Two new compounds from a mangrove sediment-derived fungus *Penicillium polonicum* H175.” *Natural Product Research*, November, 1–9.
- Liu, Y J, S Whelen, and B D Hall. 1999. “Phylogenetic relationships among *Ascomycetes*: evidence from an RNA polymerase II subunit.” *Molecular Biology and Evolution* 16 (12): 1799–1808.
- LoBuglio, K. F., J I Pitt, and J W Taylor. 1993. “Phylogenetic analysis of two ribosomal DNA regions indicates multiple independent losses of a sexual *Talaromyces* state among asexual *Penicillium* species in subgenus *Biverticillium*.” *Mycologia* 85 (4): 592.
- López-Díaz, Teresa-María, Jesús-Angel Santos, María-Luisa García-López, and Andrés Otero. 2001. “Surface mycoflora of a Spanish fermented meat sausage and toxigenicity of *Penicillium* isolates.” *International Journal of Food Microbiology* 68 (1–2): 69–74.
- López-Martínez, R., Neumann, L., and González-Mendoza, A. 1999. “Case report: cutaneous penicilliosis due to *Penicillium chrysogenum*.” *Mycoses* 42 (4): 347–49.
- López, Sofía N., Marcela P. Sangorrín, and María Belén Pildain. 2016. “Fruit rot of sweet cherries and raspberries caused by *Penicillium crustosum* and *Mucor piriformis* in South Patagonia, Argentina.” *Canadian Journal of Plant Pathology* 38 (4): 511–16.
- Louw, Johannes Petrus. 2014. “Pathogenicity and host specificity of *Penicillium* spp. on pome and citrus fruit.” Master thesis. University of Pretoria. Pretoria, South Africa.
- Louw, Johannes Petrus, and Lise Korsten. 2014. “Pathogenic *Penicillium* spp. on apple and pear.” *Plant Disease* 98 (5): 590–98.
- . 2015. “Pathogenicity and host susceptibility of *Penicillium* spp. on citrus.” *Plant Disease* 99 (January): 21–30.

- . 2016. “Postharvest decay of nectarine and plum caused by *Penicillium* spp.” *European Journal of Plant Pathology*, 1–13.
- Luciano-Rosario, Dianiris, Nancy P. Keller, and Wayne M. Jurick. 2020. “*Penicillium expansum*: biology, omics, and management tools for a global postharvest pathogen causing blue mould of pome fruit.” *Molecular Plant Pathology* 21 (11): 1391–1404.
- Lücking, Robert, M. Catherine Aime, Barbara Robbertse, Andrew N. Miller, Hiran A. Ariyawansa, Takayuki Aoki, Gianluigi Cardinali, et al. 2020. “Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding?” *IMA Fungus* 11 (1): 14.
- Ludemann, Vanesa, Mariana Greco, María Paz Rodríguez, Juan Carlos Basílico, and Alejandro G. Pardo. 2010. “Conidial production by *Penicillium nalgiovense* for use as starter cultures in dry fermented sausages by solid state fermentation.” *LWT - Food Science and Technology* 43 (2): 315–18.
- Lugauskas, Albinas, Jūratė Repečkienė, and Jurgita Stakėnienė. 2004. “Distribution of fungi producing toxins on plant-origin food stock and products.” *Agronomijas Vēstis (Latvian Journal of Agronomy)* 7: 119–22.
- Lugauskas, Albinas, Vita Raudoniene, and Laima Šveistyte. 2005. “Toxin producing micromycetes on imported products of plant origin.” *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 12 (1): 109–18.
- Lugauskas, Albinas, Jūratė Repečkienė, and Novošinskas Henrikas. 2005. “Micromycetes, producers of toxins, detected on stored vegetables.” *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 12 (2): 253–60.
- Lurie, S., S. Droby, L. Chalupowicz, and E. Chalutz. 1995. “Efficacy of *Candida oleophila* strain 182 in preventing *Penicillium expansum* infection of nectarine fruits.” *Phytoparasitica* 23 (3): 231–34. <https://doi.org/10.1007/BF02981387>.
- Magnoli, C, A M Dalcero, S M Chiacchiera, R Miazzo, and M A Saenz. 1998. “Enumeration and identification of *Aspergillus* group and *Penicillium* species in poultry feeds from Argentina.” *Mycopathologia* 142 (1): 27–32.
- Manglekar, Rupali Rahul, and Anli Geng. 2020. “CRISPR-Cas9-Mediated *seb1* disruption in *Talaromyces pinophilus* EMU for its enhanced cellulase production.” *Enzyme and Microbial Technology* 140 (October): 109646.
- Marois, J.J., D.R. Fravel, and G.C. Papavizas. 1984. “Ability of *Talaromyces flavus* to occupy the rhizosphere and its interaction with *Verticillium dahliae*.” *Soil Biology and Biochemistry* 16 (4): 387–90.
- Martinez-Beringola, M. L., T. Salto, G. Vázquez, I. Larena, P. Melgarejo, and A. De Cal. 2013. “*Penicillium oxalicum* reduces the number of cysts and juveniles of potato cyst nematodes.” *Journal of Applied Microbiology* 115 (1): 199–206.
- Marygreen, F. 1932. “The infection of oranges by *Penicillium*.” *Journal of Pomology and Horticultural Science* 10 (3): 184–215.
- Mascaro, Maria Emanuela, Giuseppe Pellegrino, and Anna Maria Palermo. 2021. “Analysis of biodeteriogens on architectural heritage. an approach of applied botany on a gothic building in Southern Italy.” *Sustainability* 14 (1): 34.
- Masclaux, F, E Guého, G S de Hoog, and R Christen. 1995. “Phylogenetic relationships of human-

pathogenic *Cladosporium (Xylohypha)* species inferred from partial LS rRNA sequences.” *Journal of Medical and Veterinary Mycology* 33 (5): 327–38.

- McCartney, H Alastair, Simon J Foster, Bart A Fraaije, and Elaine Ward. 2003. “Molecular diagnostics for fungal plant pathogens.” *Pest Management Science* 59 (2): 129–42.
- McLaren, D.L., H.C. Huang, and S.R. Rimmer. 1986. “Hyperparasitism of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Talaromyces flavus*.” *Canadian Journal of Plant Pathology* 8 (1): 43–48.
- McNeill, J, F R Barrie, W R Buck, V Demoulin, W Greuter, D L Hawksworth, P S Herendeen, et al. 2012. *International Code of Nomenclature for Algae, Fungi, and Plants (Melbourne Code)*. Koeltz Scientific Books.
- Meena, Mukesh, Andleeb Zehra, Manish K. Dubey, Mohd Aamir, and Ram S. Upadhyay. 2018. “*Penicillium* enzymes for the food industries.” In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, 167–86. Elsevier.
- Melo González, María G., Stella M. Romero, Mila Arjona, Ada G. Larumbe, and Graciela Vaamonde. 2017. “Microbiological quality of Argentinian paprika.” *Revista Argentina de Microbiología* 49 (4): 339–46.
- Méndez-Líter, Juan A., Laura I. de Eugenio, Manuel Nieto-Domínguez, Alicia Prieto, and María Jesús Martínez. 2021. “Hemicellulases from *Penicillium* and *Talaromyces* for lignocellulosic biomass valorization: a review.” *Bioresource Technology* 324 (March): 124623.
- Miedes, Eva, and Ester P Lorences. 2006. “Changes in cell wall pectin and pectinase activity in apple and tomato fruits during *Penicillium expansum* infection.” *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86 (9): 1359–64.
- Miller, Vernon L., Charles J. Gould, Elizabeth Csonka, and Worth E. Vassey. 1977. “Control of *Penicillium* rots of bulbous *Iris* during forcing.” *Plant Disease Reporter* 61 (10): 879–82.
- Mincuzzi, Annamaria, Simona Sanzani, Francesca Garganese, Ligorio Angela Maria, and Antonio Ippolito. 2017. “First report of *Talaromyces albobiverticillius* causing postharvest fruit rot on pomegranate in Italy.” *Journal of Plant Pathology* 99 (1): 303–303.
- Mislivec, Philip B., and John Tuite. 1970. “Species of *Penicillium* occurring in freshly-harvested and in stored dent corn kernels.” *Mycologia* 62 (1): 67–74.
- Moharam, Moustafa H.A., Eman S.H. Farrag, and Mazhar D.A. Mohamed. 2013. “Pathogenic fungi in garlic seed cloves and first report of *Fusarium proliferatum* causing cloves rot of stored bulbs in Upper Egypt.” *Archives Of Phytopathology And Plant Protection* 46 (17): 2096–2103.
- Mok, T, A P Koehler, M Y Yu, D H Ellis, P J Johnson, and N W Wickham. 1997. “Fatal *Penicillium citrinum* pneumonia with pericarditis in a patient with acute leukemia.” *Journal of Clinical Microbiology* 35 (10): 2654–56.
- Moosa, A, A Farzand, S T Sahi, M L Gleason, S A Khan, and X Zhang. 2019. “First report of postharvest fruit rot of *Citrus reticulata* ‘Kinnow’ caused by *Penicillium expansum* in Pakistan.” *Plant Disease* 103 (1): 155.
- Morales-Oyervides, Lourdes, Juan Pablo Ruiz-Sánchez, Jorge C. Oliveira, María Jose Sousa-Gallagher, Alejandro Méndez-Zavala, Daniele Giuffrida, Laurent Dufossé, and Julio Montañez. 2020. “Biotechnological approaches for the production of natural colorants by *Talaromyces/Penicillium*: a review.” *Biotechnology Advances* 43 (November): 107601.

- Moss, M O. 2008. "Fungi, quality and safety issues in fresh fruits and vegetables." *Journal of Applied Microbiology* 104 (5): 1239–43.
- Mukhtar, I, X Quan, T Chou, Q Huang, J Yan, B Chen, S Jiang, F Liu, Z Wen, and B Xie. 2019. "First report of *Talaromyces funiculosus* causing fruit core rot of peach (*Prunus persica*) in China." *Plant Disease* 103 (8): 2124.
- Naraghi, Laleh, Asghar Heydari, Saeed Rezaee, and Mohammad Razavi. 2012. "Biocontrol agent *Talaromyces flavus* stimulates the growth of cotton and potato." *Journal of Plant Growth Regulation* 31 (4): 471–77.
- Naraghi, Laleh, Asghar Heydari, Saeed Rezaee, Mohammad Razavi, and Homayoon AFSHARI-AZAD. 2010. "Biological control of *Verticillium* wilt of greenhouse cucumber by *Talaromyces flavus*." *Phytopathologia Mediterranea* 49 (January): 321–29.
- Neri, Fiorella, Irene Donati, Francesca Veronesi, David Mazzoni, and Marta Mari. 2010. "Evaluation of *Penicillium expansum* isolates for aggressiveness, growth and patulin accumulation in usual and less common fruit hosts." *International Journal of Food Microbiology* 143 (3): 109–17.
- Nesci, A, G Barros, C Castillo, and M Etcheverry. 2006. "Soil fungal population in preharvest maize ecosystem in different tillage practices in Argentina." *Soil and Tillage Research* 91 (1): 143–49.
- Ngokpol, Suthatip, Wittaya Suwakulsiri, Sanya Sureram, Kriengsak Lirdprapamongkol, Thammarat Aree, Suthep Wiyakrutta, Chulabhorn Mahidol, Somsak Ruchirawat, and Prasat Kittakoop. 2015. "Drimane sesquiterpene-conjugated amino acids from a marine isolate of the fungus *Talaromyces minioluteus* (*Penicillium minioluteum*)." *Marine Drugs*. MDPI.
- Nicoletti, Rosario, Elisabetta Buommino, Anna De Filippis, Maria Pilar Lopez-Gresa, Emiliano Manzo, Angela Carella, Marcella Petrazzuolo, and Maria Antonietta Tufano. 2008. "bioprospecting for antagonistic *Penicillium* strains as a resource of new antitumor compounds." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24 (2): 189–95.
- Nicoletti, Rosario, Maria Salvatore, and Anna Andolfi. 2018. "Secondary metabolites of mangrove-associated strains of *Talaromyces*." *Marine Drugs* 16 (1): 12.
- Niknejad, Farhad, Mahsa Moshfegh, Mohammad Javad Najafzadeh, Jos Houbraeken, Shahla Rezaei, Gholamreza Zarrini, Mohammad Ali Faramarzi, and Nastaran Nafissi-Varcheh. 2013. "Halotolerant ability and α -amylase activity of some saltwater fungal isolates." *Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR* 12 (Suppl): 113–19.
- Njobeh, Patrick Berka, Mike Francis Dutton, Susan Hermina Koch, Anil Chuturgoon, Stoycho Stoev, and Keith Seifert. 2009. "Contamination with storage fungi of human food from Cameroon." *International Journal of Food Microbiology* 135 (3): 193–98.
- Norin, I., and K. Rumpunen. 2003. "Pathogens on Japanese quince (*Chaenomeles japonica*) plants." In *Japanese Quince - Potential Fruit Crop for Northern Europe*, edited by Kimmo Rumpunen, 37–58. Uppsala, Sweden: Department of Crop Science, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Norvell, Lorelei L. 2011. "Fungal nomenclature. 1. Melbourne approves a new Code." *Mycotaxon* 116 (1): 481–90.
- Núñez, Félix, M. Carmen Díaz, Mar Rodríguez, Emilio Aranda, Alberto Martín, and Miguel A.

- Asensio. 2000. "Effects of substrate, water activity, and temperature on growth and verrucosidin production by *Penicillium polonicum* isolated from dry-cured ham." *Journal of Food Protection* 63 (2): 231–36.
- Ogawa, Hiroyuki, Atsuko Yoshimura, and Junta Sugiyama. 1997. "Polyphyletic origins of species of the anamorphic genus *Geosmithia* and the relationships of cleistothecial genera: evidence from 18S, 5S and 28S rDNA sequence analysis." *Mycologia* 89: 756–71.
- Ogawa, Hiroyuki, and Junta Sugiyama. 2000. "Evolutionary relationships of the cleistothecial genera with *Penicillium*, *Geosmithia*, *Merimbla* and *Sarophorum* anamorphs as inferred from 18S rDNA sequence divergence." In *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*, edited by Robert A Samson and John I. Pitt, 149–161. Amsterdam, the Netherlands: Harwood Academic Publishers.
- Okada, Hiromasa, Seigo Kamiya, Yasuko Shiina, Hiroaki Suwa, Masao Nagashima, Shigeru Nakajima, Haruki Shimokawa, et al. 1998. "BE-31405, a new antifungal antibiotic produced by *Penicillium minioluteum* I. Description of producing organism, fermentation, isolation, physico-chemical and biological properties." *The Journal of Antibiotics* 51 (12): 1081–86.
- Oliveri, C, A Campisano, A Catara, and G Cirvilleri. 2007. "Characterization and fAFLP genotyping of *Penicillium* strains from postharvest samples and packinghouse environments." *Journal of Plant Pathology* 89 (1): 29–40.
- Oshikata, Chiyako, Naomi Tsurikisawa, Akemi Saito, Maiko Watanabe, Yoichi Kamata, Maki Tanaka, Takahiro Tsuburai, et al. 2013. "Fatal pneumonia caused by *Penicillium digitatum*: a case report." *BMC Pulmonary Medicine* 13 (1): 16.
- Otero, C., C. Arredondo, A. Echeverría-Vega, and F. Gordillo-Fuenzalida. 2020. "*Penicillium* spp. mycotoxins found in food and feed and their health effects." *World Mycotoxin Journal* 13 (3): 323–43.
- Overy, David P., Keith A. Seifert, Marc E. Savard, and Jens C. Frisvad. 2003. "Spoilage fungi and their mycotoxins in commercially marketed chestnuts." *International Journal of Food Microbiology* 88 (1): 69–77.
- Overy, D.P., J.C. Frisvad, U. Steinmeier, and U. Thrane. 2005. "Clarification of the agents causing blue mold storage rot upon various flower and vegetable bulbs: implications for mycotoxin contamination." *Postharvest Biology and Technology* 35 (2): 217–21.
- Oxford, Albert Edward, Harold Raistrick, and Paul Simonart. 1939. "Studies in the biochemistry of micro-organisms: griseofulvin, C₁₇H₁₇O₆Cl₁, a metabolic product of *Penicillium Griseofulvum* Dierckx." *Biochemical Journal* 33 (2): 240–48.
- Ozturkoglu Budak, S., Marian J. Figge, Jos Houbraken, and Ronald P. de Vries. 2016. "The diversity and evolution of microbiota in traditional Turkish Divle Cave cheese during ripening." *International Dairy Journal* 58 (July): 50–53.
- Palou, Lluís, A Guardado, and Clara Montesinos-Herrero. 2010. "First report of *Penicillium* spp. and *Pidiella granati* causing postharvest fruit rot of pomegranate in Spain." *New Disease Reports* 22 (2010): 21–22.
- Palou, Lluís, Verónica Taberner, Aurora Guardado, Miguel Ángel Del Río, and Clara Montesinos-Herrero. 2013. "Incidence and etiology of postharvest fungal diseases of pomegranate (*Punica granatum* cv. Mollar de Elche) in Spain." *Phytopathologia Mediterranea* 52 (3): 478–89.

- Palou, Lluís. 2014. “*Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* (Green mold, Blue mold).” In *Postharvest Decay: Control Strategies*, edited by Silvia Bautista-Baños, 45–102. Oxford, UK: Academic Press.
- Park, H.-S., K.-S. Jung, S. O. Kim, and S. J. Kim. 1994. “Hypersensitivity pneumonitis Induced by *Penicillium expansum* in a home environment.” *Clinical & Experimental Allergy* 24 (4): 383–85.
- Park, Myung Soo, Seobihn Lee, Seung-Yoon Oh, Ga Youn Cho, and Young Woon Lim. 2016. “Diversity and enzyme activity of *Penicillium* species associated with macroalgae in Jeju island.” *Journal of Microbiology* 54 (10): 646–54.
- Park, Myung Soo, Seung-Yoon Oh, Jonathan J. Fong, Jos Houbraeken, and Young Woon Lim. 2019. “The diversity and ecological roles of *Penicillium* in intertidal zones.” *Scientific Reports* 9 (1): 13540.
- Passos, Douglas de França, Nei Pereira, and Aline Machado de Castro. 2018. “A comparative review of recent advances in cellulases production by *Aspergillus*, *Penicillium* and *Trichoderma* strains and their use for lignocellulose deconstruction.” *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* 14: 60–66.
- Perišić, Milivoje. 1972. “*Penicillium expansum*, the cause of soft rot of apple fruits.” *Jugoslovensko Voćarstvo* 21/22: 843–46.
- Peterson, Stephen W. 2004. “Multilocus DNA sequence analysis shows that *Penicillium biourgeianum* is a distinct species closely related to *P. brevicompactum* and *P. olsonii*.” *Mycological Research* 108 (4): 434–40.
- Pianzola, M J, M Moscatelli, and S Vero. 2004. “Characterization of *Penicillium* isolates associated with blue mold on apple in Uruguay.” *Plant Disease* 88 (1): 23–28.
- Pidoplichko, N. M. 1972. *Penicillia*. Kiev: Polygraph.
- Pimenta, Raphael S, Francisco L Silva, Juliana F M Silva, Paula B Moraes, Danúbia T Braga, Carlos A Rosa, and Ary Jr Corrêa. 2008. “Biological control of *Penicillium italicum*, *P. digitatum* and *P. expansum* by the predacious yeast *Saccharomycopsis schoenii* on oranges.” *Brazilian Journal of Microbiology* 39 (1): 85–90.
- Pitt, John I. 1973. “An appraisal of identification methods for *Penicillium* species: novel taxonomic criteria based on temperature and water relations.” *Mycologia* 65 (5): 1135–57.
- Pitt, John I. 1979. *The Genus Penicillium and Its Teleomorphic States Eupenicillium and Talaromyces*. London: Academic Press.
- . 1986. “Inherent problems in *Penicillium* taxonomy.” In *Advances in Penicillium and Aspergillus Systematics. NATO ASI Series, Vol 102.*, edited by Robert A. Samson and John I. Pitt, 155–61. Boston, MA: Springer US.
- . 1988. *A Laboratory Guide to Common Penicillium Species*. 2nd ed. North Ryde, N.S.W., Australia: The Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO), Division of Food Processing.
- Pitt, J. I., and R. A. Samson. 1990. “Systematics of *Penicillium* and *Aspergillus* - past, present and future.” In *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification*, edited by Robert A. Samson and John I. Pitt, 3–13. New York, USA: Springer US.

- Pitt, J.I. 1994. "The current role of *Aspergillus* and *Penicillium* in human and animal health." *Medical Mycology* 32 (s1): 17–32.
- Pitt, John I., and Ailsa Hocking. 2009. *Fungi and Food Spoilage*. 3rd ed. New York, NY: Springer-Verlag New York Inc.
- Pitt, John I., Robert A. Samson, and Jens Christian Frisvad. 2000. "List of accepted species and their synonyms in the family *Trichocomaceae*." In *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*, edited by Robert A Samson and John I. Pitt, 9–49. Amsterdam, the Netherlands: Harwood Academic Publishers.
- Plavšić, Dragana, Ljubiša Šarić, Gordana Dimić, Đorđe Psodorov, Nebojša Ilić, Dragan Psodorov, and Anamarija Mandić. 2015. "Presence of a potentially toxigenic *Penicillium* species in wheat flour." *Journal on Processing and Energy in Agriculture* 19 (4): 211–14.
- Plaza, P, J Usall, N Teixidó, and I Viñas. 2003. "Effect of water activity and temperature on germination and growth of *Penicillium digitatum*, *P. italicum* and *Geotrichum candidum*." *Journal of Applied Microbiology* 94 (4): 549–54.
- Plaza, Pilar, Josep Usall, Neus Teixidó, and Immaculada Viñas. 2004. "Effect of water activity and temperature on competing abilities of common postharvest citrus fungi." *International Journal of Food Microbiology* 90 (1): 75–82.
- Pott, Delphine M., José G. Vallarino, and Sonia Osorio. 2020. "Metabolite changes during postharvest storage: effects on fruit quality traits." *Metabolites* 10 (5): 187.
- Prodromou, I., T. Thomidis, and A. Zambounis. 2018. "First report of *Penicillium expansum* (Link) Thom. causing postharvest fruit rot of kiwifruit in northern Greece." *Plant Disease* 102 (9): 1851–1851.
- Prusky, Dov, and Nir Yakoby. 2003. "Pathogenic fungi: leading or led by ambient pH?" *Molecular Plant Pathology* 4 (6): 509–16.
- Prusky, Dov, James L. McEvoy, Robert Saftner, William S. Conway, and Richard Jones. 2004. "Relationship between host acidification and virulence of *Penicillium* spp. on apple and citrus fruit." *Phytopathology* 94 (1): 44–51.
- Punja, Z.K., G. Rodriguez, A. Tirajoh, and S. Formby. 2016. "Role of fruit surface mycoflora, wounding and storage conditions on post-harvest disease development on greenhouse tomatoes." *Canadian Journal of Plant Pathology* 38 (4): 448–59.
- Punja, Zamir K. 2018. "Flower and foliage-infecting pathogens of marijuana (*Cannabis sativa* L.) plants." *Canadian Journal of Plant Pathology* 40 (4): 514–27.
- Punja, Zamir K., Danielle Collyer, Cameron Scott, Samantha Lung, Janesse Holmes, and Darren Sutton. 2019. "Pathogens and molds affecting production and quality of *Cannabis sativa* L." *Frontiers in Plant Science* 10 (October): 1120.
- Qin, Guozheng, Jia Liu, Baohua Cao, Boqiang Li, and Shiping Tian. 2011. "Hydrogen peroxide acts on sensitive mitochondrial proteins to induce death of a fungal pathogen revealed by proteomic analysis." Edited by Ching-Hong Yang. *PLoS ONE* 6 (7): e21945.
- Quintanilla, J A. 1985. "Three new species of *Penicillium* belonging to subgenus *Biverticillium* Dierckx, isolated from different substrates." *Mycopathologia* 91 (2): 69–78.
- Radenkovs, Vitalijs, and Karina Juhnevica-Radenkova. 2018. "Comparison of three storage

techniques for post-harvest quality preservation of six commercially available cultivars of apple.” *International Journal of Fruit Science* 18 (3): 268–86.

- Radonjić, Sanja. 2011. “Intensity of attack caused by Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* Wiedem. (Diptera, Tephritidae) on mandarin along the Montenegrin seacoast.” *Pesticidi i Fitomedicina* 26 (4): 355–61.
- Rajeshkumar, Kunhiraman C, Neriman Yilmaz, Sayali D Marathe, and Keith A. Seifert. 2019. “Morphology and multigene phylogeny of *Talaromyces amyrossmaniae*, a new synnematous species belonging to the section *Trachyspermi* from India.” *MycKeys* 45 (January): 41–56.
- Ramírez, C, and A T Martínez. 1981. “Four new species of *Penicillium* isolated from different substrata.” *Mycopathologia* 74 (3): 163–71.
- Ramirez, C, and A T Martinez. 1982. *Manual and Atlas of the Penicillia*. Elsevier Biomedical Press.
- Ramos, Antonio J., Daiana Garcia, Vicente Sanchis, and Sonia Marín. 2011. “Intraspecific variability of growth and patulin production of 79 *Penicillium expansum* isolates at two temperatures.” *International Journal of Food Microbiology*.
- Raper, Charles, and Kenneth B Thom. 1949. *Manual of the Penicillia*. 1st ed. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Reboux, G., A. P. Bellanger, S. Roussel, F. Grenouillet, S. Sornin, R. Piarroux, J. C. Dalphin, and L. Millon. 2009. “Indoor mold concentration in eastern France.” *Indoor Air* 19 (6): 446–53.
- Reboux, G, S Rocchi, M Vacheyrou, and L Millon. 2019. “Identifying indoor air *Penicillium* species: a challenge for allergic patients.” *Journal of Medical Microbiology* 68 (5): 812–21. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000960>.
- Reenen-Hoekstra, E S Van, J C Frisvad, R A Samson, and A C Stolk. 1990. “The *Penicillium funiculosum* complex - well defined species and problematic taxa.” In *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification*, edited by Robert A Samson and John I Pitt, 173–92. Boston, MA: Springer US.
- Reuck, Karen de, Karin Zeeman, and Lise Korsten. 2008. “Postharvest hygiene management in the litchi export chain.” *Stewart Postharvest Review* 4 (3): 1–7.
- Reverberi, Massimo, Alessandra Ricelli, Slaven Zjalic, Anna a. Fabbri, and Corrado Fanelli. 2010. “Natural functions of mycotoxins and control of their biosynthesis in fungi.” *Applied Microbiology and Biotechnology* 87 (3): 899–911.
- Rharmitt, Sanae, Majida Hafidi, Hassan Hajjaj, Fabio Scordino, Domenico Giosa, Letterio Giuffr??, Davide Barreca, Giuseppe Criseo, and Orazio Romeo. 2016. “Molecular characterization of patulin producing and non-producing *Penicillium* Species in apples from Morocco.” *International Journal of Food Microbiology* 217: 137–40.
- Rodolfi, M., E. Lorenzi, and A. M. Picco. 2003. “Study of the occurrence of greenhouse microfungi in a botanical garden.” *Journal of Phytopathology* 151 (11–12): 591–99.
- Ropars, Jeanne, Corinne Cruaud, Sandrine Lacoste, and Joëlle Dupont. 2012. “A taxonomic and ecological overview of cheese fungi.” *International Journal of Food Microbiology* 155 (3): 199–210.
- Rosenberger, David A., Catherine A. Engle, Frederick W. Meyer, and Christopher B. Watkins.

2006. “*Penicillium expansum* invades apples through stems during controlled atmosphere storage.” *Plant Health Progress* 7 (1).
- Sabuquillo, P., A. De Cal, and P. Melgarejo. 2006. “Biocontrol of tomato wilt by *Penicillium oxalicum* formulations in different crop conditions.” *Biological Control* 37 (3): 256–65.
- Sage, Lucile, David Garon, and Françoise Seigle-Murandi. 2004. “Fungal microflora and ochratoxin A risk in French vineyards.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (18): 5764–68.
- Salamon, Sylwia, Katarzyna Mikołajczak, Lidia Błaszczyk, Karolina Ratajczak, and Hanna Sulewska. 2020. “Changes in root-associated fungal communities in *Triticum aestivum* ssp. *spelta* L. and *Triticum aestivum* ssp. *vulgare* L. under drought stress and in various soil processing.” Edited by Aimin Zhang. *PLOS ONE* 15 (10): e0240037.
- Saleh, Iman, and Ipek Goktepe. 2019. “The characteristics, occurrence, and toxicological effects of patulin.” *Food and Chemical Toxicology* 129 (July): 301–11.
- Samson, R. A., J. Houbraken, U. Thrane, J.C. Frisvad, and B. Andersen. 2010. *Food and Indoor Fungi. CBS Laboratory Manual Series*. 1st ed. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Samson, R. A., N. Yilmaz, J. Houbraken, H. Spierenburg, K. A. Seifert, S. W. Peterson, J. Varga, and J C Frisvad. 2011. “Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*.” *Studies in Mycology* 70 (1): 159–83.
- Sánchez-Torres, Paloma, Laura Vilanova, Ana Rosa Ballester, Mario López-Pérez, Neus Teixidó, Inmaculada Viñas, Josep Usall, Luis González-Candelas, and Rosario Torres. 2018. “Unravelling the contribution of the *Penicillium expansum* *PeSte12* transcription factor to virulence during apple fruit infection.” *Food Microbiology* 69 (February): 123–35.
- Sanderson, Peter G., and Robert A. Spotts. 1995. “Postharvest decay of winter pear and apple fruit caused by *Penicillium*.” *Phytopathology*.
- Santini, Antonello, Petra Mikušová, Michael Sulyok, Rudolf Krska, Roman Labuda, and Antónia Šrobárová. 2014. “*Penicillium* strains isolated from Slovak grape berries taxonomy assessment by secondary metabolite profile.” *Mycotoxin Research* 30 (4): 213–20.
- Santos, Juliana Lane Paixão dos, Angélica Olivier Bernardi, Letícia L. Pozza Morassi, Beatriz S. Silva, Marina Venturini Copetti, and Anderson S. Sant’Ana. 2016. “Incidence, populations and diversity of fungi from raw materials, final products and air of processing environment of multigrain whole meal bread.” *Food Research International* 87 (September): 103–8.
- Santos, P E, E Piontelli, Y R Shea, M L Galluzzo, S M Holland, M E Zelazko, and S D Rosenzweig. 2006. “*Penicillium piceum* infection: diagnosis and successful treatment in chronic granulomatous disease.” *Medical Mycology* 44 (8): 749–53.
- Sanz-Ros, Antonio V., Michael M. Müller, Roberto San Martín, and Julio J. Diez. 2015. “Fungal endophytic communities on twigs of fast and slow growing Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in northern Spain.” *Fungal Biology* 119 (10): 870–83.
- Sanzani, S M, C Montemurro, V. Di Rienzo, M Solfrizzo, and A Ippolito. 2013. “Genetic structure and natural variation associated with host of origin in *Penicillium expansum* strains causing blue mould.” *International Journal of Food Microbiology* 165 (2): 111–20.
- Savković, Željko, Miloš Stupar, Nikola Unković, Aleksandar Knežević, Jelena Vukojević, and

- Milica Ljaljević Grbić. 2021. "Fungal deterioration of cultural heritage objects." In *Biodegradation [Working Title]*. IntechOpen.
- Schoch, Conrad L., Keith A. Seifert, S. Huhndorf, V. Robert, John L. Spouge, C. A. Levesque, W. Chen, et al. 2012. "Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal dna barcode marker for *Fungi*." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (16): 6241–46.
- Schoch, Conrad L., Barbara Robbertse, Vincent Robert, Duong Vu, Gianluigi Cardinali, Laszlo Irinyi, Wieland Meyer, et al. 2014. "Finding needles in haystacks: linking scientific names, reference specimens and molecular data for *Fungi*." *Database* 2014: 1–21.
- Scholtz, I., and L. Korsten. 2016. "Profile of *Penicillium* species in the pear supply chain." *Plant Pathology* 65 (7): 1126–32.
- Scott, P. M., J. W. Lawrence, and W. van Walbeek. 1970. "Detection of mycotoxins by thin-layer chromatography: application to screening of fungal extracts." *Applied Microbiology* 20 (5): 839–42.
- Segretain, G. 1959. "*Penicillium marneffe* n. sp., agent d'une mycose du système réticulo-endothélial." *Mycopathologia et Mycologia Applicata* 11 (4): 327–53.
- Seifert, Keith A, and Jens Christian Frisvad. 2000. "*Penicillium* on solid wood products." In *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*, edited by Robert A Samson and John I. Pitt, 1st ed., 285–98. Amsterdam, the Netherlands: Harwood Academic Publishers.
- Seifert, Keith A, and Gerry Louis-Seize. 2000. "Phylogeny and species concepts in the *Penicillium aurantiogriseum* complex as inferred from partial β -tubulin gene DNA sequences." In *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*, edited by Robert A. Samson and John I. Pitt, 189–98. Amsterdam, the Netherlands: Harwood Academic Publishers.
- Seifert, Keith A, Ellen S Hoekstra, Jens C Frisvad, and Gerry Louis-seize. 2004. "*Penicillium cecidicola*, a new species on cynipid insect galls on *Quercus pacifica* in the western United States" 120: 517–23.
- Seifert, Keith A, Robert A Samson, Jeremy R Dewaard, Jos Houbraeken, C André Lévesque, Jean-Marc Moncalvo, Gerry Louis-Seize, and Paul D N Hebert. 2007. "Prospects for fungus identification using *COI* DNA barcodes, with *Penicillium* as a test case." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (10): 3901–6.
- Serra, Rita, and S. W. Peterson. 2007. "*Penicillium astrolabium* and *Penicillium neocrassum*, two new species isolated from grapes and their phylogenetic placement in the *P. olsonii* and *P. brevicompactum* clade." *Mycologia* 99 (1): 78–87.
- Sharma, Y P, and Geeta Sumbali. 1997. "Unrecorded post-harvest fungal rots of quince fruits from India." *National Academy Science Letters* 20 (3/4): 35–37.
- Silva, Christian J, Casper van den Abeele, Isabel Ortega-Salazar, Victor Papin, Jaclyn A Adaskaveg, Duoduo Wang, Clare L Casteel, et al. 2021. "Host susceptibility factors render ripe tomato fruit vulnerable to fungal disease despite active immune responses." Edited by Ariel Vicente. *Journal of Experimental Botany* 72 (7): 2696–2709.
- Šimonovičová, Alexandra, Lucia Kraková, Domenico Pangallo, Mária Majorošová, Elena Piecková,

- Silvia Bodoriková, and Michaela Dörnhöferová. 2015. “Fungi on mummified human remains and in the indoor air in the Kuffner family crypt in Sládkovičovo (Slovakia).” *International Biodeterioration & Biodegradation* 99 (April): 157–64.
- Skouboe, P, M Boysen, L H Pedersen, J C Frisvad, and L Rossen. 1996. “Identification of *Penicillium* species using the internal transcribed spacer (ITS) regions.” In *Fungal Identification Techniques*, 160–64.
- Skouboe, Pernille, Jens C. Frisvad, John W. Taylor, Dorte Lauritsen, Marianne Boysen, and Lone Rossen. 1999. “Phylogenetic analysis of nucleotide sequences from the ITS region of terverticillate *Penicillium* species.” *Mycological Research* 103 (7): 873–81.
- Skouboe, Pernille, John W. Taylor, Jens C. Frisvad, Dorte Lauritsen, Larsen Lise, Charlotte Albaek, Marianne Boysen, and Lone Rossen. 2000. “Molecular methods for differentiation of closely related *Penicillium* species.” In *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*, edited by Robert A. Samson and John I. Pitt, 1st ed., 179–88. Amsterdam, the Netherlands: Harwood Academic Publishers.
- Smalley, E.B., and H.N. Hansen. 1962. “*Penicillium* decay of garlic.” *Phytopathology* 52: 666–78.
- Smedsgaard, Jørn, Michael Edberg Hansen, and Jens C Frisvad. 2004. “Classification of terverticillate *Penicillia* by electrospray mass spectrometric profiling.” *Studies in Mycology*, no. 49: 243–51.
- Smilanick, J. L., M. F. Mansour, F Mlikota Gabler, and W.R. Goodwine. 2006. “The effectiveness of pyrimethanil to inhibit germination of *Penicillium digitatum* and to control citrus green mold after harvest.” *Postharvest Biology and Technology* 42 (1): 75–85.
- Smiri, Marwa, Amina Kheireddine, Rania Hammami, Mustapha Rouissi, Eduardo Antonio Espeso, and Najla Sadfi-Zouaoui. 2021. “An assessment of the air quality in apple warehouses: new records of *Aspergillus europaeus*, *Aspergillus pulverulentus*, *Penicillium allii* and *Penicillium sumatraense* as decay agents.” *Archives of Microbiology* 203 (10): 5975–92.
- Smith, George. 1949. “The effect of adding trace elements to Czapek-Dox medium.” *Transactions of the British Mycological Society* 32 (3–4): 280–83.
- . 1963. “Some new species of *Penicillium*, and some observations on the taxonomy of the genus.” *Transactions of the British Mycological Society* 46 (3): 331–37.
- Smith, I. M., J. Dunez, D. H. Phillips, R. A. Lelliott, and S. A. Archer, eds. 1988. *European Handbook of Plant Diseases*. 1st ed. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications.
- Snowdon, Anna L. 1990. *A Colour Atlas of Post-Harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables, Volume 1: General Introduction and Fruits*. Vol. 1. London, UK: Wolfe Scientific Ltd.
- . 1991. *A Colour Atlas of Post-Harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables, Volume 2: Vegetables*. Vol. 2. London, UK: Manson Publishing Ltd.
- Solley, G, and R Hyatt. 1980. “Hypersensitivity pneumonitis induced by *Penicillium* species.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 65 (1): 65–70.
- Sommer, Noel F. 1982. “Postharvest handling practices and postharvest diseases of fruit.” *Plant Disease* 66 (5): 357–64.
- Soni, Namita, and Kushal Raj. 2022. “Isolation and evaluation of fruit and seed mycoflora of bottle

- gourd (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.).” *Indian Phytopathology* 75 (1): 83–91.
- Sonjak, Silva, Jens Christian Frisvad, and Nina Gunde-Cimerman. 2005. “Comparison of secondary metabolite production by *Penicillium crustosum* strains, isolated from Arctic and other various ecological niches.” *FEMS Microbiology Ecology* 53 (1): 51–60.
- Sonjak, Silva, Mia Ličen, Jens Christian Frisvad, and Nina Gunde-Cimerman. 2011. “The mycobiota of three dry-cured meat products from Slovenia.” *Food Microbiology* 28 (3): 373–76.
- Stolk, Amelia C., and Robert A. Samson. 1972. “The genus *Talaromyces*. studies on *Talaromyces* and related genera II.” *Studies in Mycology* 2: 1–65.
- Stolk, Amelia C, and Robert A Samson. 1971. “Studies on *Talaromyces* and related genera I. *Hamigera* gen. nov. and *Byssochlamys*.” *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 6 (3): 341–57.
- Stošić, Stefan, Danijela Ristić, Katarina Gašić, Mira Starović, Milica Ljaljević Grbić, Jelena Vukojević, and Svetlana Živković. 2020. “*Talaromyces minioluteus*: new postharvest fungal pathogen in Serbia.” *Plant Disease* 104 (3): 656–67.
- Stošić, Stefan, Danijela Ristić, Željko Savković, Milica Ljaljević Grbić, Jelena Vukojević, and Svetlana Živković. 2021. “*Penicillium* and *Talaromyces* species as postharvest pathogens of pear fruit (*Pyrus communis*) in Serbia.” *Plant Disease* 105 (11): 3510–21.
- Stošić, Stefan, Danijela Ristić, and Svetlana Živković. 2021. “Postharvest decay of mandarin fruit in serbia caused by *Penicillium expansum*.” *Zbornik Matice Srpske Za Prirodne Nauke*, no. 140: 29–44.
- Stošić, Stefan, Dušica Delić, and Svetlana Živković. 2022. “Polyphasic identification of decay agents of lemon fruits in serbia.” *Zbornik Matice Srpske Za Prirodne Nauke* 143: 73–87.
- Strausbaugh, Carl A. 2018. “Incidence, distribution, and pathogenicity of fungi causing root rot in Idaho long-term sugar beet storage piles.” *Plant Disease* 102 (11): 2296–2307.
- Su, Chunyan, Yongjian Hu, Dan Gao, Yi Luo, Amanda Juan Chen, Xiaolin Jiao, and Weiwei Gao. 2018. “Occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins on root herbs from Chinese markets.” *Journal of Food Protection* 81 (5): 754–61.
- Su, Lei, Hua Zhu, Peilin Sun, Xue Li, Bochao Yang, Hong Gao, Zhiguang Xiang, and Chuan Qin. 2021. “Species diversity in *Penicillium* and *Acaulium* from herbivore dung in China, and description of *Acaulium stercorarius* sp. nov.” *Mycological Progress* 20 (12): 1539–51.
- Sudha, Charu Gupta, and Sunita Aggarwal. 2016. “Dyeing wet blue goat nappa skin with a microbial colorant obtained from *Penicillium minioluteum*.” *Journal of Cleaner Production* 127: 585–90.
- . 2017. “Optimization and extraction of extra and intracellular color from *Penicillium minioluteum* for application on protein fibers.” *Fibers and Polymers* 18 (4): 741–48.
- Sun, Bing-Da, Amanda J. Chen, Jos Houbraken, Jens C. Frisvad, Wen-Ping Wu, Hai-Lei Wei, Yu-Guang Zhou, Xian-Zhi Jiang, and Robert A. Samson. 2020. “New section and species in *Talaromyces*.” *MycoKeys* 68 (July): 75–113.
- Supparatpinyo, K, C Khamwan, V Baosoung, T Sirisanthana, and K.E Nelson. 1994. “Disseminated *Penicillium marneffe* infection in Southeast Asia.” *The Lancet* 344 (8915): 110–13.

- Svendsen, Anne, and Jens C. Frisvad. 1994. "A chemotaxonomic study of the terverticillate *Penicillia* based on high performance liquid chromatography of secondary metabolites." *Mycological Research* 98 (11): 1317–28.
- Takuma, Takahiro, Kaoru Okada, Akihiro Yamagata, Nobuyuki Shimono, and Yoshihito Niki. 2011. "Mold colonization of fiberglass insulation of the air distribution system: effects on patients with hematological malignancies." *Medical Mycology* 49 (2): 150–56.
- Tang, Jianmin, Yiqing Liu, Honghai Li, Limei Wang, Ke Huang, and Zexiong Chen. 2015. "Combining an antagonistic yeast with harpin treatment to control postharvest decay of kiwifruit." *Biological Control* 89 (October): 61–67.
- Tannous, Joanna, Dilip Kumar, Noa Sela, Edward Sionov, Dov Prusky, and Nancy P. Keller. 2018. "Fungal attack and host defence pathways unveiled in near-avirulent interactions of *Penicillium expansum creA* mutants on apples." *Molecular Plant Pathology* 19 (12): 2635–50.
- Tannous, Joanna, Omer Barda, Dianiris Luciano-Rosario, Dov B. Prusky, Edward Sionov, and Nancy P. Keller. 2020. "New insight into pathogenicity and secondary metabolism of the plant pathogen *Penicillium expansum* through deletion of the epigenetic reader *SntB*." *Frontiers in Microbiology* 11 (April): 610.
- Terrasán, César Rafael Fanchini, Beatriz Temer, Marta Cristina Teixeira Duarte, and Eleonora Cano Carmona. 2010. "Production of xylanolytic enzymes by *Penicillium janczewskii*." *Bioresource Technology* 101 (11): 4139–43.
- Terrone, Cárol Cabral, Caroline de Freitas, César Rafael Fanchini Terrasan, Alex Fernando de Almeida, and Eleonora Cano Carmona. 2018. "Agroindustrial biomass for xylanase production by *Penicillium chrysogenum*: purification, biochemical properties and hydrolysis of hemicelluloses." *Electronic Journal of Biotechnology* 33 (May): 39–45.
- Thom, Charles. 1906. "Fungi in cheese ripening: Camembert and Roquefort." *U.S. Department of Agriculture, Bureau of Animal Industry – Bulletin* 82: 1–39.
- . 1910. *Cultural Studies of Species of Penicillium*. Edited by A.D. Melvin. *U.S. Department of Agriculture, Bureau of Animal Industry*. Bulletin 1. Washington: U.S. Department of Agriculture, Bureau of Animal Industry.
- . 1930. *The Pencillia*. Baltimore: Williams and Wilkins Co.
- Thompson, J D, D G Higgins, and T J Gibson. 1994. "CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice." *Nucleic Acids Research* 22 (22): 4673–80.
- Tian, Shiping, Guozheng Qin, and Boqiang Li. 2013. "Reactive oxygen species involved in regulating fruit senescence and fungal pathogenicity." *Plant Molecular Biology* 82 (6): 593–602.
- Toghueo, Rufin Marie Kouipou, and Fabrice Fekam Boyom. 2020. "Endophytic *Penicillium* species and their agricultural, biotechnological, and pharmaceutical applications." *3 Biotech* 10 (3): 107.
- Tomlinson, Julie Kristy, Avery James Cooley, Shuping Zhang, and Melanie Elaine Johnson. 2011. "Granulomatous lymphadenitis caused by *Talaromyces helicus* in a Labrador Retriever." *Veterinary Clinical Pathology* 40 (4): 553–57.
- Torres, Fábio Aurélio Esteves, Bruna Regina Zaccarim, Leticia Celia de Lencastre Novaes, Angela

- Faustino Jozala, Carolina Alves dos Santos, Maria Francisca Simas Teixeira, and Valéria Carvalho Santos-Ebinuma. 2016. "Natural colorants from filamentous fungi." *Applied Microbiology and Biotechnology* 100 (6): 2511–21.
- Tosi, Solveig, Begoña Casado, Renato Gerdol, and Giuseppe Caretta. 2002. "Fungi isolated from Antarctic mosses." *Polar Biology* 25 (4): 262–68.
- Tournas, V.H., N.S. Niazi, and J.S. Kohn. 2015. "Fungal presence in selected tree nuts and dried fruits." *Microbiology Insights* 8 (January): MBI.S24308.
- Tournas, Vasiliki H., and Nicholas S. Niazi. 2018. "Potentially toxigenic fungi from selected grains and grain products." *Journal of Food Safety* 38 (1): e12422.
- Tuohy, Maria G, Christopher D Laffey, and Michael P Coughlan. 1994. "Characterization of the individual components of the xylanolytic enzyme system of *Talaromyces emersonii*." *Bioresource Technology* 50 (1): 37–42.
- Unković, Nikola, Ivica Dimkić, Miloš Stupar, Slaviša Stanković, Jelena Vukojević, and Milica Ljaljević Grbić. 2018. "Biodegradative potential of fungal isolates from sacral ambient: *in vitro* study as risk assessment implication for the conservation of wall paintings." Edited by Olaf Kniemeyer. *PLOS ONE* 13 (1): e0190922.
- Valdez, J. G., M. A. Makuch, A. F. Ordovini, R. W. Masuelli, D. P. Overy, and R. J. Piccolo. 2006. "First report of *Penicillium allii* as a field pathogen of garlic (*Allium sativum*)." *Plant Pathology* 55 (4): 583–583.
- Valiuškaitė, Alma. 2002. "Micromycetes infecting stone fruit trees." *Biologija* 48 (1): 18–21.
- Vega, Fernando E., Francisco Posada, Stephen W. Peterson, Thomas J. Gianfagna, and Fabio Chaves. 2006. "*Penicillium* species endophytic in coffee plants and ochratoxin A production." *Mycologia* 98 (1): 31–42.
- Vega, Fernando, Francisco Posada-Florez, Mary Aime, Stephen W Peterson, and Stephen Rehner. 2008. "Fungal endophytes in green coffee seeds." *Mycosystema* 27 (January): 75–84.
- Vico, Ivana, and Wayne M. II Jurick. 2012. *Postžetvena patologija biljaka i biljnih proizvoda*. 1. izdanje. Beograd: Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu.
- Vico, I., V. Gaskins, N. Duduk, M. Vasić, J. J. Yu, K. A. Peter, and W. M. Jurick. 2014. "First report of *Penicillium crustosum* causing blue mold on stored apple fruit in Serbia." *Plant Disease* 98 (10): 1430–1430.
- Vico, Ivana, Natasa Duduk, Miljan Vasic, and Milica Nikolic. 2014b. "Identification of *Penicillium expansum* causing postharvest blue mold decay of apple fruit." *Pesticidi i fitomedicina* 29 (4): 257–66.
- Vico, Ivana, and Nataša Duduk. 2020. *Postžetvena patologija*. Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet.
- Vilanova, L, N Teixidó, R Torres, J Usall, and I Viñas. 2012a. "The infection capacity of *P. expansum* and *P. digitatum* on apples and histochemical analysis of host response." *International Journal of Food Microbiology* 157 (3): 360–67.
- Vilanova, L, I Viñas, R Torres, J Usall, A M Jauset, and N Teixidó. 2012b. "Infection capacities in the orange-pathogen relationship: compatible (*Penicillium digitatum*) and incompatible (*Penicillium expansum*) interactions." *Food Microbiology* 29 (1): 56–66.

- Vilanova, Laura, Neus Teixidó, Rosario Torres, Josep Usall, Inmaculada Viñas, and Paloma Sánchez-Torres. 2016. "Relevance of the transcription factor *PdSte12* in *Penicillium digitatum* conidiation and virulence during citrus fruit infection." *International Journal of Food Microbiology* 235 (October): 93–102.
- Vilanova, Laura, Mario López-Pérez, Ana-Rosa Ballester, Neus Teixidó, Josep Usall, Isabel Lara, Inmaculada Viñas, et al. 2018. "Differential contribution of the two major polygalacturonases from *Penicillium digitatum* to virulence towards citrus fruit." *International Journal of Food Microbiology* 282 (October): 16–23.
- Viñas, I, N Vallverdu, S Monllao, J Usall, and V Sanchis. 1993. "Imazalil resistant *Penicillium* isolates from Spanish apple packinghouses." *Mycopathologia* 123 (1): 27–33.
- Vincent, Michael A., and John I. Pitt. 1989. "*Penicillium allii*, a new species from Egyptian garlic." *Mycologia* 81 (2): 300–303.
- Visagie, Cobus M. 2008. "Biodiversity in the genus *Penicillium* from coastal Fynbos soil." Master Thesis. Stellenbosch University, Stellenbosch, South Africa.
- . 2012. "The polyphasic taxonomy of *Penicillium* and *Talaromyces* spp. isolated from the diverse Fynbos biome." PhD Diss. Stellenbosch University, Stellenbosch, South Africa.
- Visagie, C M, Y Hirooka, J B Tanney, E Whitfield, K Mwange, M Meijer, a S Amend, Keith A Seifert, and Robert A Samson. 2014a. "*Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* isolated from house dust samples collected around the world." *Studies in Mycology* 78: 63–139.
- Visagie, C M, J Houbraken, J C Frisvad, S-B Hong, C H W Klaassen, G Perrone, K A Seifert, J Varga, T Yaguchi, and R A Samson. 2014b. "Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*." *Studies in Mycology* 78 (2000): 343–71.
- Vismer, H. F., E.W. Sydenhain, M. Schlechter, N.L. Brown, J.P. Rheeder, W.F.O. Marasas, and A.D. Hocking. 1996. "Patulin-Producing *Penicillium* species isolated from naturally infected apples in South Africa." *South African Journal of Science* 92 (11): 530–34.
- Vos, Johan de, Evert van Garderen, Hensen H, Tange I, Curfs-Breuker I, Vandeveld B, and Jacques Meis. 2009. "Disseminated *Penicillium radicum* infection in a dog, clinically resembling multicentric malignant lymphoma." *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 78 (May): 183–88.
- Vylkova, Slavena. 2017. "Environmental pH modulation by pathogenic fungi as a strategy to conquer the host." Edited by Deborah A. Hogan. *PLOS Pathogens* 13 (2): e1006149.
- Wang, C. W., J. Ai, H. Y. Lv, H. Y. Qin, Y. M. Yang, Y. X. Liu, and S. T. Fan. 2015. "First report of *Penicillium expansum* causing postharvest decay on stored kiwifruit (*Actinidia arguta*) in China." *Plant Disease* 99 (7): 1037–1037.
- Wang, Kaili, Guillaume Legrand Ngolong Ngea, Esa Abiso Godana, Yu Shi, Boen Lanhuang, Xiaoyun Zhang, Lina Zhao, Qiya Yang, Siyun Wang, and Hongyin Zhang. 2021. "Recent advances in *Penicillium expansum* infection mechanisms and current methods in controlling *P. expansum* in postharvest apples." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, September, 1–14.
- Wang, Kaili, Xiangfeng Zheng, Xiaoyun Zhang, Lina Zhao, Qiya Yang, Nana Adwoa Serwah Boateng, Joseph Ahima, Jia Liu, and Hongyin Zhang. 2019. "Comparative transcriptomic analysis of the interaction between *Penicillium expansum* and apple fruit (*Malus pumila* Mill.)

- during early stages of infection.” *Microorganisms* 7 (11): 495.
- Wang, Long, and Wen-Ying Zhuang. 2007. “Phylogenetic analyses of *Penicillia* based on partial calmodulin gene sequences.” *Bio Systems* 88: 113–26.
- Wang, Yuan, Kewei Feng, Bin Liu, Zhiwei Zhang, Jianping Wei, Yahong Yuan, and Tianli Yue. 2017. “Mycoflora assessment, growth and toxigenic features of patulin-producers in kiwifruit in china.” *Journal of the Science of Food and Agriculture*, no. October.
- Waters, Deborah M., Patrick G. Murray, Liam A. Ryan, Elke K. Arendt, and Maria G. Tuohy. 2010. “*Talaromyces emersonii* thermostable enzyme systems and their applications in wheat baking systems.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (12): 7415–22.
- Wei, Shangzhu, Xiuli Xu, and Long Wang. 2021. “Four new species of *Talaromyces* section *Talaromyces* discovered in China.” *Mycologia* 113 (2): 492–508.
- Weisenborn, Jascha L F, Roland Kirschner, Orlando Cáceres, and Meike Piepenbring. 2010. “*Talaromyces indigoticus* Takada & Udagawa, the first record for Panama and the American continent.” *Mycopathologia* 170 (3): 203–8.
- Wen, Gang, Xiangqian Xu, Tinglin Huang, Hong Zhu, and Jun Ma. 2017. “Inactivation of three genera of dominant fungal spores in groundwater using chlorine dioxide: effectiveness, influencing factors, and mechanisms.” *Water Research* 125 (November): 132–40.
- Wen, Yanzhang, Yibing Lv, Ji Hao, Hao Chen, Yun Huang, Chang Liu, Huiqi Huang, Yuanren Ma, and Xinzhou Yang. 2020. “Two new compounds of *Penicillium polonicum*, an endophytic fungus from *Camptotheca acuminata* Decne.” *Natural Product Research* 34 (13): 1879–83.
- Westling, R. 1911. “Über Die Grünen Spezies Der Gattung *Penicillium*.” *Arkiv F or Botanik* 11 (1): 1–156.
- Whipple, Kellie M, Justin W Shmalberg, Ashley C Joyce, and Sarah S Beatty. 2019. “Cytologic identification of fungal arthritis in a Labrador Retriever with disseminated *Talaromyces helicus* infection.” *Veterinary Clinical Pathology* 48 (3): 449–54.
- White, T. J., S. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. “Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics.” In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, edited by M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White, 315–22. New York, NY: Academic Press, Inc.
- Whitelaw, M.A. 1999. “Growth Promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi.” In *Advances in Agronomy*, edited by Donald L. Sparks, 69:99–151. Academic Press.
- WHO. 2005. Children's health and the environment. Pristupljeno 15. juna 2021.
http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43162/9241562927_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y&ua=1.
- WHO. 2019. “World Health Organization Model list of essential medicines, 21st List, 2019.” Geneva: World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/325771>.
- Wigmann, Évelin Francine, Fernanda Saccomori, Angélica Olivier Bernardi, Jens C. Frisvad, and Marina Venturini Copetti. 2015. “Toxigenic *Penicillia* spoiling frozen chicken nuggets.” *Food Research International* 67 (January): 219–22.
- Williams, A P. 1990. “*Penicillium* and *Aspergillus* in the food microbiology laboratory.” In *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification*, edited by Robert A Samson and John I

Pitt, 67–71. Boston, MA: Springer US.

- Xian, Liang, Fei Wang, Xiang Luo, Yu-Liang Feng, and Jia-Xun Feng. 2015. “Purification and characterization of a highly efficient calcium-independent α -amylase from *Talaromyces pinophilus* 1-95.” *PLOS ONE* 10 (3): e0121531.
- Xu, Jianping. 2016. “Fungal DNA barcoding.” *Genome* 932 (August): 1–20. <https://doi.org/10.1139/gen-2016-0046>.
- Xu, Meiqiu, Qiya Yang, Nana Adwoa Serwah Boateng, Joseph Ahima, Yong Dou, and Hongyin Zhang. 2020. “Ultrastructure observation and transcriptome analysis of *Penicillium expansum* invasion in postharvest pears.” *Postharvest Biology and Technology* 165 (July): 111198.
- Yao, Chenglin, William S. Conway, and Carl E. Sams. 1996. “Purification and characterization of a polygalacturonase produced by *Penicillium expansum* in apple fruit.” *Phytopathology* 86 (11): 1160–66.
- Yilmaz, N., C. M. Visagie, J. Houbraeken, J. C. Frisvad, and R. A. Samson. 2014. “Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*.” *Studies in Mycology* 78 (1): 175–341.
- Yilmaz, Neriman, Carlos A. López-Quintero, Aída Marcela Vasco-Palacios, Jens C. Frisvad, Bart Theelen, Teun Boekhout, Robert A. Samson, and Jos Houbraeken. 2016. “Four novel *Talaromyces* species isolated from leaf litter from Colombian Amazon rain forests.” *Mycological Progress* 15 (10–11): 1041–56.
- Yin, Chunxiao, Hong Zhu, Yueming Jiang, Yang Shan, and Liang Gong. 2020. “Silencing Dicer-like genes reduces virulence and sRNA generation in *Penicillium italicum*, the cause of citrus blue mold.” *Cells* 9 (2): 363.
- Yin, Guohua, Yuliang Zhang, Kayla Pennerman, Guangxi Wu, Sui Hua, Jiujiang Yu, Wayne Jurick, Anping Guo, and Joan Bennett. 2017. “Characterization of blue mold *Penicillium* species isolated from stored fruits using multiple highly conserved Loci.” *Journal of Fungi* 3 (1): 12.
- Yu, Jinxiu, Ying Wu, Zhen He, Mi Li, Kaiming Zhu, and Bida Gao. 2018. “Diversity and antifungal activity of endophytic fungi associated with *Camellia oleifera*.” *Mycobiology* 46 (2): 85–91. <https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1454008>.
- Yun, Hyejeong, Sangyong Lim, Jinwoo Chung, Cheorun Jo, Jongchun Park, Joong-Ho Kwon, and Dongho Kim. 2006. “Isolation and characterization of *Penicillium crustosum*, a patulin producing fungus, from apples.” *Food Science and Biotechnology* 15 (6): 896–901.
- Yurgel, Svetlana N., Lord Abbey, Nancy Loomer, Rosalie Gillis-Madden, and Melissa Mammoliti. 2018. “Microbial communities associated with storage onion.” *Phytobiomes Journal* 2 (1): 35–41.
- Zaccarim, Bruna R., Fernanda de Oliveira, Michel R. Z. Passarini, Alysson W. F. Duarte, Lara D. Sette, Angela F. Jozala, Maria F. S. Teixeira, and Valéria de Carvalho Santos-Ebinuma. 2019. “Sequencing and phylogenetic analyses of *Talaromyces amestolkiae* from Amazon: A producer of natural colorants.” *Biotechnology Progress* 35 (1): e2684.
- Zagory, Devon. 1999. “Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations.” *Postharvest Biology and Technology* 15 (3): 313–21.
- Žebeljan, Aleksandra, Nataša Duduk, Nina Vučković, Wayne M. Jurick, and Ivana Vico. 2021. “Incidence, speciation, and morpho-genetic diversity of *Penicillium* spp. causing blue mold of stored pome fruits in Serbia.” *Journal of Fungi* 7 (12): 1019.

- Zhai, Ming-Ming, Jie Li, Chun-Xiao Jiang, Yan-Ping Shi, Duo-Long Di, Phillip Crews, and Quan-Xiang Wu. 2016. "The bioactive secondary metabolites from *Talaromyces* species." *Natural Products and Bioprospecting* 6 (1): 1–24.
- Zhang, Lumin, Hiroshi Kamitakahara, Hideki Murayama, Takanori Ohsako, and Akihiro Itai. 2020. "Analysis of fruit lignin content, composition, and linkage types in pear cultivars and related species." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68 (8): 2493–2505.
- Zhang, Shuwu, Qi Zheng, Bingliang Xu, and Jia Liu. 2019. "Identification of the fungal pathogens of postharvest disease on peach fruits and the control mechanisms of *Bacillus subtilis* JK-14." *Toxins* 11 (6): 322.
- Zhang, Tianyuan, Xuepeng Sun, Qian Xu, Luis González Candelas, and Hongye Li. 2013. "The pH signaling transcription factor *PacC* is required for full virulence in *Penicillium digitatum*." *Applied Microbiology and Biotechnology* 97 (20): 9087–98.
- Zhang, Zhan-Quan, Tong Chen, Bo-Qiang Li, Guo-Zheng Qin, and Shi-Ping Tian. 2021. "Molecular basis of pathogenesis of postharvest pathogenic fungi and control strategy in fruits: progress and prospect." *Molecular Horticulture* 1 (1): 2.
- Zhang, Zhi-Kang, Xin-Cun Wang, Wen-Ying Zhuang, Xian-Hao Cheng, and Peng Zhao. 2021. "New species of *Talaromyces* (*Fungi*) isolated from soil in Southwestern China." *Biology* 10 (8): 745.
- Zheng, Fangliang, Wenwen Zheng, Limei Li, Siming Pan, Meichen Liu, Weiwei Zhang, Hongsheng Liu, and Chunyu Zhu. 2017. "Chitosan controls postharvest decay and elicits defense response in kiwifruit." *Food and Bioprocess Technology* 10 (11): 1937–45.
- Zhou, Jiayu, Weifeng Gong, Tingting Tu, Jiaqi Zhang, Xiaoshuang Xia, Luning Zhao, Xinghua Zhou, and Yun Wang. 2023. "Transcriptome analysis and functional characterization reveal that *Peclg* gene contributes to the virulence of *Penicillium expansum* on apple fruits." *Foods* 12 (3): 479.
- Ziv, Carmit, Dilip Kumar, Noa Sela, Maxim Itkin, Sergey Malitsky, Arthur A. Schaffer, and Dov B. Prusky. 2020. "Sugar-regulated susceptibility of tomato fruit to *Colletotrichum* and *Penicillium* requires differential mechanisms of pathogenicity and fruit responses." *Environmental Microbiology* 22 (7): 2870–91.
- Zou, Jian, Tingfu Zhang, Guoqin Wen, Bo Song, and Shijiao Jiang. 2021. "First report of *Penicillium olsonii* Bainier & Sartory causing postharvest fruit rot of grape (*Vitis vinifera* L.) in China." *Plant Disease*, December.
- Živković, S., D. Ristić, and S. Stošić. 2021. "First report of *Penicillium olsonii* causing postharvest fruit rot on tomato in Serbia." *Plant Disease* 105 (8): 2246.
- Živković, Svetlana, Lela Ristić, Mira Starović, Goran Aleksić, and Stefan Stošić. 2022. "*Penicillium expansum* as a postharvest pathogen of tomato fruit in Serbia." In *Proceedings of the XIII International Scientific Agricultural Symposium "Agrosym 2022" 6-9 October 2022*, 545–51. East Sarajevo/Jahorina (Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina): University of East Sarajevo, Faculty of Agriculture.

8. PRILOG 1

Tabela 1. Podloge i rastvori korišćeni za ispitivanje odgajivačkih odlika izolata (Visagie i dr. 2014b)

Naziv	Supstanca	Količina	Referenca
CYA	Čapekov rastvor	10 ml	Modifikovano prema Pitt, 1979
	Saharoza	30 g	
	Kvašćev ekstrakt	5 g	
	K ₂ HPO ₄	1 g	
	CuSO ₄ × 5H ₂ O	0,005 g	
	ZnSO ₄ × 7H ₂ O	0,01 g	
	Agar	20 g	
	Destilovana H ₂ O	1000 ml	
MEA	Ekstrakt slada (malt)	20 g	Modifikovano prema Blakeslee 1915
	Pepton	1 g	
	Glukoza	20 g	
	CuSO ₄ × 5H ₂ O	0,005 g	
	ZnSO ₄ × 7H ₂ O	0,01 g	
	Agar	20 g	
	Destilovana H ₂ O	1000 ml	
CREA	Saharoza	30 g	Modifikovano prema Frisvad 1981
	Kreatin monohidrat	3 g	
	K ₃ PO ₄ × 7H ₂ O	1,6 g	
	MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,5 g	
	KCl	0,5 g	
	FeSO ₄ × 7H ₂ O	0,01 g	
	CuSO ₄ × 5H ₂ O	0,005 g	
	ZnSO ₄ × 7H ₂ O	0,01 g	
	Brom krezol ljubičasto	0,05 g	
	Agar	20 g	
Destilovana H ₂ O	1000 ml		
Čapekov rastvor/koncentrat (100 ml)	NaNO ₃	30 g	Pitt, 1979
	KCl	5 g	
	MgSO ₄ × 7H ₂ O	5 g	
	FeSO ₄ × 7H ₂ O	0,1 g	
Polučvrsti agar	Agar	2 g	Pitt, 1979
	Tween 80	0,5 ml	
	Destilovana H ₂ O	1000 ml	

Biografija

Stefan (Srboljub) Stošić rođen je 28.12.1987. u Vranju, gde je završio osnovnu školu „Jovan Jovanović Zmaj“ i gimnaziju „Bora Stanković“ (prirodno-matematički smer). Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, smer Ekologija i zaštita životne sredine upisao je 2006. godine, a završio 2011. godine sa prosečnom ocenom 9,63, i odbranjenim diplomskim radom na temu „Morfološka varijabilnost biljaka iz nekoliko populacija srpskog zvončaca (*Edraianthus serbicus* (Kern.) Petrov., Campanulaceae)“. Doktorske akademske studije na upisao je 2012. godine na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na smeru Biologija, modul Eksperimentalna mikologija.

Od septembra 2012. godine bio je volonter na Institutu za zaštitu bilja i životnu sredinu u Beogradu, a od aprila 2013. je bio angažovan u istoj instituciji kao doktorand-stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja na projektu "Razrada integrisanog upravljanja i primene savremenih principa suzbijanja štetnih organizama u zaštiti bilja" (TR 31018). Od decembra 2017. godine zaposlen je na Institutu za zaštitu bilja i životnu sredinu u Beogradu.

Zajedno sa koautorima objavio je ukupno 28 publikacija, od čega 15 naučnih radova i 13 saopštenja na skupovima međunarodnog i domaćeg značaja.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани _____ Стефан С. Стошић _____

број индекса _____ Б3044/2012 _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Идентификација и карактеризација врста родова *Penicillium* и *Talaromyces* са ускладиштених плодова воћа и поврћа у Србији

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, _____ 23.04.2024. _____

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора **Стефан С. Стошић**

Број индекса **Б3044/2012**

Студијски програм **Биологија (Експериментална микологија)**

Наслов рада **„Идентификација и карактеризација врста родова *Penicillium* и *Talaromyces* са ускладиштених плодова воћа и поврћа у Србији“**

Ментори **др Светлана Живковић, научни саветник**

 др Милица Љаљевић Грбић, редовни професор

Потписани/а **Стефан С. Стошић**

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, **23.04.2024.**

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Идентификација и карактеризација врста родова *Penicillium* и *Talaromyces* са ускладиштених плодова воћа и поврћа у Србији“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 23.04.2024.

1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.