

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Iva J. Savić

**KARAKTERIZACIJA VRSTA IZ *FUSARIUM*
FUJIKUROI KOMPLEKSA PATOGENA
ZRNA STRNIH ŽITA U SRBIJI**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Iva J. Savić

**CHARACTERIZATION OF *FUSARIUM*
FUJIKUROI SPECIES COMPLEX
PATHOGENS OF SMALL GRAIN KERNELS
IN SERBIA**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023

Komisija za ocenu i odbranu:

Mentor: dr Nataša Duduk, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije: dr Slavica Stanković, naučni savetnik
Institut za kukuruz „Zemun Polje“

dr Ivana Vico, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

dr Vesna Kandić, viši naučni saradnik
Institut za kukuruz „Zemun Polje“

dr Milica Lučev, naučni saradnik
Institut za kukuruz „Zemun Polje“

Datum odbrane: _____

Zahvalnica

Zahvaljujem Institutu za kukuruz „Zemun Polje“ na materijalnoj i tehničkoj podršci prilikom izrade doktorske disertacije.

Hvala dr Slavici Stanković šefu Laboratorije za fitopatologiju Instituta za kukuruz „Zemun Polje“ na pomoći u izboru teme, savetima i podršci tokom svih ovih godina.

Veliku zahvalnost dugujem mentoru doktorske disertacije prof. dr Nataši Duduk na idejama, predlozima i korisnim savetima koji su pomogli da se uobliči ova doktorska disertacija.

Zahvaljujem prof. dr Ivani Vico na korisnim sugestijama.

Zahvaljujem se dr Ani Nikolić koja je rukovodila eksperimentalnim delom disertacije koji je obuhvatao molekularne analize i tumačenje njihovih rezultata.

Zahvaljujem se dr Vesni Kandić na pomoći oko izvođenja poljskih ogleda, kao i na obezbeđivanju dela uzoraka koji je korišćen u eksperimentalnom delu disertacije.

Zahvaljujem dr Milici Lučev koja je rukovodila eksperimentalnim delom disertacije koji je obuhvatao kvalitativnu i kvantitativnu analizu mikotoksina i na pomoći oko tumačenja rezultata.

Hvala celom istraživačkom timu Laboratorije za fitopatologiju Instituta za kukuruz „Zemun Polje“ na pomoći.

Posebnu zahvalnost dugujem svojoj porodici i onima koje smatram porodicom na безусловnoj podršci koju mi uvek pružaju.

KARAKTERIZACIJA VRSTA IZ *Fusarium fujikuroi* KOMPLEKSA

PATOGENA ZRNA STRNIH ŽITA U SRBIJI

REZIME

Iz zrna obične pšenice, durum pšenice, ječma i tritikalea sakupljenih iz skladišta sa 55 lokaliteta u Srbiji tokom četiri godine (2014.-2017.) dobijeni su izolati vrsta *Fusarium fujikuroi* kompleksa. Odabrani izolati su identifikovani i okarakterisani na osnovu patogenih, molekularnih, morfoloških i toksikoloških karakteristika. Na strnim žitima identifikovane su tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa - *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* i *Fusarium subglutinans*. Ova ispitivanja su potvrdila prisustvo ove tri vrste na zrnu pšenice i ječma u Srbiji. *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans* su po prvi put opisane na zrnu durum pšenice u Srbiji, kao i na zrnu tritikalea u svetu.

Molekularna identifikacija vrsta *F. fujikuroi* kompleksa urađena je na osnovu tri genska lokusa (ITS, TEF 1- α i RPB2). Sekvenciranjem tri genska lokusa dobijene su sekvence na osnovu kojih su rekonstruisana filogenetska stabla za svaki region posebno. Na osnovu TEF 1- α regiona uspešno su razdvojene sve tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa, dok na osnovu druga dva regiona to nije bilo moguće. Identifikacija vrsta urađena je i primenom specifičnih prajmera (VER1/VER2, PRO1/PRO2, SUB1/SUB2, FV-F2/FV-FR, FS-F1/FS-R i FS-F2/FS-R).

Na osnovu makroskopskih karakteristika kao što su izgled i boja micelije, pigmentacija podloge uočena je varijabilnost kod sve tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa, ali na osnovu ovih karakteristika nije bilo moguće precizno razlikovati ove tri vrste. Makrokonidije i mikrokonidije obrazovale su sve tri vrste, dok je prisustvo mezokonidija zabeleženo samo kod izolata vrste *F. subglutinans*. Vrste *F. fujikuroi* kompleksa obrazovale su makrokonidije ravnih ivica sa zakrivljenom apikalnom ćelijom i bazalnom ćelijom u obliku stopala. Najduže makrokonidije obrazovala je vrsta *F. subglutinans*. Mikrokonidije su bile bez septi, ovalnog oblika. Najkraće mikrokonidije obrazovala je vrsta *F. proliferatum*. Vrsta *F. verticillioides* obrazovala je mikrokonidije u dugim lancima na monofijalidama, dok je vrsta *F. proliferatum* obrazovala kraće lance mikrokonidija na monofijalidama i polifijalidama. Kod vrste *F. subglutinans* mikrokonidije su se formirale u lažnim glavicama na monofijalidama i polifijalidama. Načini obrazovanja mikrokonidija mogu poslužiti u preliminarnoj identifikaciji ove tri vrste.

Virulentnost vrsta ispitana je na listovima ječma, klasu durum pšenice i klasu pšenice, ječma i tritikalea. Na listovima ječma vrste *F. proliferatum* i *F. subglutinans* bile su jednako virulentne, dok je vrsta *F. verticillioides* imala najmanju prosečnu ocenu virulentnosti. Ispitivanja na klasu durum pšenice sprovedena su tokom dve godine. Rezultati su pokazali da je virulentnost bila veća u drugoj godini ispitivanja. Tokom obe godine najvirulentnija vrsta je bila *F. verticillioides* dok su vrste *F. proliferatum* i *F. subglutinans* bile su jednako virulentne. Tokom jedne proizvodne godine ispitana je virulentnost ovih vrsta na klasu pšenice, ječma i tritikalea, nakon čega je zaključeno da su sve tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa bile jednako virulentne.

Vrste ovog kompleksa su značajne zbog svoje sposobnosti da sintetišu mikotoksine od kojih su najznačajniji fumonizini. Koncentracije sintetisanih fumonizina ispitane su ELISA metodom. Dobijeni rezultati ukazali su na visoke koncentracije fumonizina kod izolata vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum*, dok su izolati vrste *F. subglutinans* sintetisali fumonizine u niskim koncentracijama ili ispod praga detekcije.

Ključne reči: *Fusarium fujikuroi*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium subglutinans*, pšenica, durum pšenica, ječam, tritikale, fumonizini.

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Fitopatologija

UDK: 632.4:582.28]:633.1(043.3)

CHARACTERIZATION OF *Fusarium fujikuroi* SPECIES COMPLEX PATHOGENS OF SMALL GRAIN KERNELS IN SERBIA

ABSTRACT

Fusarium fujikuroi species complex isolates were obtained from grains of common wheat, durum wheat, barley and triticale collected from storages from 55 locations in Serbia during four years (2014-2017). Selected isolates were identified and characterized based on pathogenic, molecular, morphological and toxicological characteristics. Three species of *F. fujikuroi* complex were identified on small grains - *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* and *Fusarium subglutinans*. Results of these researches confirmed the presence of these three species on wheat and barley grains in Serbia. This is the first report of *F. verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. subglutinans* on durum wheat grain in Serbia, as well as on triticale grain in the world.

Molecular identification of the *F. fujikuroi* species complex was done on the basis of three gene loci (ITS, TEF 1- α and RPB2). By sequencing three gene loci, sequences were obtained on the basis of which phylogenetic trees were reconstructed for each region. All three species of the *F. fujikuroi* species complex were successfully separated based on the TEF 1- α region, while on the other two regions it was not possible. Species identification was also done using specific primers (VER1/VER2, PRO1/PRO2, SUB1/SUB2, FV-F2/FV-FR, FS-F1/FS-R and FS-F2/FS-R).

Based on macroscopic characteristics such as appearance and color of the mycelium, pigmentation of the substrate, variability was observed in all three species of *F. fujikuroi* species complex, but based on these characteristics, it was not possible to accurately distinguish these three species. All three species produced macroconidia and microconidia, while the presence of mesoconidia was observed only in *F. subglutinans* isolates. Species of the *F. fujikuroi* complex produced straight-edged macroconidia with a curved apical cell and a foot-shaped basal cell. The species longest macroconidia were produced by *F. subglutinans*. Microconidia were without septa, oval in shape. The shortest microconidia were formed by *F. proliferatum* isolates. The species *F. verticillioides* formed microconidia in long chains on monophialids, while *F. proliferatum* formed shorter chains of microconidia on monophialids and polyphialids. Species *F. subglutinans* formed microconidia in false heads on monophialids and polyphialids. The methods of formation of microconidia can be useful in the preliminary identification of these three species.

The virulence of the species was tested on barley leaves and spikes on durum wheat, wheat, barley and triticale. On barley leaves, *F. proliferatum* and *F. subglutinans* were equally virulent, while *F. verticillioides* had the lowest average virulence rating. Research on the durum wheat spikes was conducted in two year period. The results showed that virulence was higher in the second year of the trial. During both years, the most virulent species was *F. verticillioides*, while the species *F. proliferatum* and *F. subglutinans* were equally virulent. During one production year the virulence of these species was tested on wheat, barley and triticale spikes, after which it was concluded that all three species from *F. fujikuroi* complex were equally virulent.

The species of this complex are significant for their ability to synthesize mycotoxins, of which the most important are fumonisins. The concentrations of synthesized fumonisins were tested using the ELISA method. The obtained results indicated high concentrations of fumonisins in isolates of *F. verticillioides* and *F.*

proliferatum, while isolates of *F. subglutinans* synthesized fumonisins in low concentrations or below the detection rate.

Key words: *Fusarium fujikuroi*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium subglutinans*, wheat, durum wheat, barley, triticale, fumonisins

Scientific field: Biotechnical sciences

Narrow scientific field: Phytopathology

UDC: 632.4:582.28]:633.1(043.3)

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Pregled literature	3
2.1. Ekonomski značaj strnih žita i njihova rasprostranjenost	3
2.2. Fuzarioze strnih žita	4
2.2.1. Geografska rasprostranjenost i ekonomski značaj fuzarioza	4
2.2.2. Simptomi oboljenja	5
2.2.3. Ciklus razvoja patogena	5
2.2.4. Značajne vrste <i>Fusarium</i> spp. opisane na strnim žitima u svetu	6
2.2.5. Značajne vrste <i>Fusarium</i> spp. opisane na strnim žitima u Srbiji	7
2.2.6. Vrste <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa	8
2.2.7. Fuzariotoksini	10
2.3. Identifikacija <i>Fusarium</i> spp. na osnovu morfoloških karakteristika	10
2.3.1. Morfološke karakteristike vrste <i>Fusarium verticillioides</i>	11
2.3.2. Morfološke karakteristike vrste <i>Fusarium proliferatum</i>	12
2.3.3. Morfološke karakteristike vrste <i>Fusarium subglutinans</i>	13
2.4. Identifikacija <i>Fusarium</i> spp. primenom molekularnih analiza	14
3. Materijal i metode	16
3.1. Sakupljanje uzoraka	16
3.2. Izolacija gljiva i dobijanje čistih kultura	16
3.3. Dobijanje monosporijalnih izolata	16
3.4. Provera patogenosti izolata i reizolacija gljiva	17
3.5. Molekularna identifikacija i karakterizacija	18
3.5.1. Priprema izolata	18
3.5.2. Izolacija DNK	18
3.5.3. Određivanje koncentracije DNK	18
3.5.4. Molekularna detekcija vrsta <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa primenom specifičnih prajmera	19
3.5.5. Molekularna karakterizacija vrsta <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa na osnovu različitih genskih lokusa	20
3.5.6. Vizuelizacija PCR produkta	22
3.5.7. Sekvenciranje uzoraka	22
3.5.8. Proučavanje filogenetskih odnosa	22
3.6. Proučavanje morfoloških karakteristika vrsta <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa	22
3.6.1. Ispitivanje makroskopskih karakteristika	23
3.6.2. Ispitivanje mikroskopskih karakteristika	23
3.7. Ispitivanje virulentnosti izolata	23
3.8. Ispitivanje toksikoloških karakteristika ispitivanih izolata	24
3.8.1. Priprema uzoraka	25
3.8.2. Ekstrakcija mikotoksina iz uzoraka	25
3.8.3. Kvantifikacija mikotoksina	25
3.9. Statistička obrada podataka	25

4. Rezultati	27
4.1. Dobijeni izolati vrsta <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa	27
4.2. Provera patogenosti i reizolacija patogena	30
4.3. Molekularna identifikacija i karakterizacija izolata vrsta <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa	30
4.3.1. Identifikacija vrsta specifičnim prajmerima	30
4.3.2. Identifikacija na osnovu specifičnih genskih regiona	34
4.3.3. Analiza sekvenci <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa	35
4.3.4. Filogenetske analize	37
4.4. Morfološka karakterizacija izolata vrsta <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa	40
4.4.1. Makroskopske karakteristike izolata	41
4.4.2. Mikroskopske karakteristike izolata	45
4.5. Virulentnost izolata	54
4.5.1. Virulentnost izolata na listovima ječma	54
4.5.2. Virulentnost izolata na klasu durum pšenice	58
4.5.3. Virulentnost izolata na klasu pšenice, ječma i tritikalea	63
4.6. Toksikološke karakteristike izolata	68
5. Diskusija	70
5.1. Molekularna identifikacija i karakterizacija vrsta <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa	72
5.2. Morfološke karakteristike vrsta <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa	73
5.3. Virulentnost vrsta <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa	76
5.4. Toksikološke karakteristike vrsta <i>Fusarium fujikuroi</i> kompleksa	77
6. Zaključak	78
7. Literatura	80
8. Biografija	104
9. Izjava o autorstvu	105
10. Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada	106
11. Izjava o korišćenju	107

1. Uvod

Žita imaju veliki značaj u ishrani ljudi, domaćih životinja i u industrijskoj preradi. U strna žita se ubrajaju obična pšenica (*Triticum aestivum* L.), ječam (*Hordeum vulgare* L.), ovas (*Avena sativa* L.), durum pšenica (*Triticum turgidum* L. var. *durum* Desf.) i tritikale (*Triticosecale* Wittmack) (Hancock, 2012). Po zastupljenosti među žitima u Srbiji, pšenica zauzima drugo mesto posle kukuruza i gaji se na oko 35% ukupnih obradivih površina pod žitima. Pšenica je dominantna u odnosu na ostala strna žita jer se gaji na oko 580 hiljada hektara, dok je na drugom mestu po zastupljenosti strnih žita u Srbiji ječam koji se gaji na 100 118 hektara obradive površine. Tritikale se u Srbiji gaji na 25 725 hektara obradive površine i koristi se kao stočna hrana. Durum pšenica se koristi u ishrani ljudi i od velikog je značaja za mlinarsku industriju i industriju testenina (Takač i sar., 2019).

Gljive roda *Fusarium* spadaju u grupu ekonomski značajnih prouzrokovaca bolesti strnih žita. Na strnim žitima najčešće izazivaju fuzariozu klasa. Vrste koje pripadaju *Fusarium fujikuroi* kompleksu su kosmopolitski rasprostranjene, ekonomski značajne i toksigene vrste (Yilmaz et al., 2021). Do sada je opisano više od 60 filogenetski različitih vrsta od kojih su najznačajnije *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nirenberg, *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg i *Fusarium subglutinans* (Wollenweber & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas (O'Donnell et al. 1998; Leslie and Summerell, 2006; Munkvold, 2017; Crous et al., 2021; Yilmaz et al., 2021).

Primarni domaćin ovih vrsta je kukuruz (Leslie and Summerell, 2006), ali je njihovo prisustvo zabeleženo i na pšenici, durum pšenici i ječmu. U povoljnim godinama vrste *F. fujikuroi* kompleksa mogu da izazovu smanjenje prinosa pšenice i do 60% (Ramirez et al., 2006; Palacios et al., 2011; Ivić et al., 2011; Piacentini et al., 2015). U Srbiji su sve tri vrste opisane na kukuruzu (Lević et al., 2009), dok je među strnim žitima njihovo prisustvo zabeleženo na pšenici (Dopuđa i Lević, 2004; Stanković et al., 2007; Krnjaja et al., 2008; Tančić i sar., 2009; Krnjaja et al., 2011a, 2011b; Lević et al., 2012b; Savić et al., 2021) i ječmu (Lević et al., 2009; Lević et al., 2012a).

Značajan aspekt vrsta *F. fujikuroi* kompleksa je njihova sposobnost da sintetišu mikotoksine. Iako mogu da stvaraju različite mikotoksine, najznačajniji su fumonizini. Među njima najtoksičniji je fumonizin FB1 (Logrieco et al., 2003). Ranija ispitivanja su pokazala visoke koncentracije fumonizina FB1 u zrnu kukuruza i u proizvodima na bazi kukuruza (FAO, 2021). Fumonizine sintetišu vrste *F. verticillioides* i *F. proliferatum* u višim, ali i vrsta *F. subglutinans* u nižim koncentracijama. Mikotoksini dospevaju u biljku nakon zaraze toksigenim vrstama gljiva i mogu da kontaminiraju biljne proizvode ili animalne prerađevine (Nelson et al., 1991; Ariño et al., 2007; Covarelli et al., 2012; Lanza et al., 2014; Rocha et al., 2015). Takođe, imaju štetno dejstvo po zdravlje ljudi i domaćih životinja koje se ogleda u ispoljavanju kancerogenih, teratogenih, neurotoksičnih i drugih toksičnih efekata (Pleadin et al., 2019). U Srbiji, a i u svetu, prisustvo fumonizina zabeleženo je 2009. godine na klasu pšenice (Stanković et al., 2012), što upućuje da vrste ovog roda pored ekonomskih šteta predstavljaju i kontaminante mikotoksinima koje treba eliminisati u cilju proizvodnje zdravstveno bezbednih biljnih proizvoda.

Fuzarioza klasa prisutna je u našim agroekološkim uslovima na zrnu žitarica i u povoljnim uslovima za razvoj bolesti prouzrokuje ekonomske štete. Vrste *F. fujikuroi* kompleksa su prouzrokovaci fuzarioze klasa strnih žita i ubrajaju se u grupu toksigenih gljiva. Iako su vrste ovog kompleksa opisane u našoj zemlji na pšenici i ječmu, nedostaju

podaci o njihovom prisustvu na drugim strnim žitima (durum pšenica i tritikale), zbog čega je cilj ove disertacije da se identifikuju i okarakterišu vrste ovog kompleksa na osnovu morfoloških, patogenih i molekularnih karakteristika. Cilj je, takođe, i da se ispita virulentnost izolata ovih vrsta, kao i njihov toksigeni potencijal stvaranja mikotoksina (fumonizina).

2. Pregled literature

2.1. Ekonomski značaj strnih žita i njihova rasprostranjenost

Žita predstavljaju jedne od najvažnijih kultivisanih biljnih vrsta, neophodnih za ishranu ljudi i domaćih životinja. Najčešće se dele prema izgledu vegetativnih i generativnih organa biljke na prava ili strna i prosolika žita. U strna žita se ubrajaju obična pšenica (*Triticum aestivum* L.), ječam (*Hordeum vulgare* L.), ovas (*Avena sativa* L.), durum pšenica (*Triticum turgidum* L. var. *durum* Desf.) i tritikale (*Triticosecale* Wittmack) (Hancock, 2012).

Obična pšenica (pšenica) se u svetu gaji na više od 218 miliona hektara, što je više od bilo koje druge biljke. Globalna proizvodnja trenutno iznosi 774 miliona tona (FAO, 2021). Svetska trgovina ovom biljnom vrstom je veća nego trgovina svim drugim žitima zajedno. Glavni centri proizvodnje su Evropa, Kina, Indija, Rusija i Sjedinjene Američke Države (STATISTA, 2021). Pšenica čini oko 30% proizvedenih žita, od čega se 72% proizvedene pšenice se koristi za ljudsku ishranu. Pšeničnim hlebom se hrani oko 70% svetskog stanovništva. Ima veliki značaj u mlinarskoj, pivskoj, farmaceutskoj industriji, dok se pšenične mekinje i slama koriste u stočarstvu (Peña, 2007). Po zastupljenosti među žitima u Srbiji, pšenica zauzima drugo mesto posle kukuruza i gaji se na oko 35% ukupnih obradivih površina pod žitima što čini oko 580 hiljada hektara, sa prosečnim prinosom od 4389 t/ha i ukupnom godišnjom proizvodnjom od oko 2,5 miliona tona (FAO, 2019).

Durum pšenica je tetraploidna vrsta obične pšenice. Proizvodnja durum pšenice čini 5% ukupne proizvodnje pšenice sa površinom od 16 miliona hektara širom sveta (International Grains Council, 2020). Glavni prehrambeni proizvod od durum pšenice je testenina koja predstavlja osnovnu namirnicu u mnogim zemljama sveta (Ranieri, 2015). Danas se u razvijenim zemljama ova biljna vrsta uglavnom gaji zbog njene komercijalne vrednosti jer je cena durum pšenice obično 20 do 40% viša od cene obične pšenice (FPI, 2021). Najveći deo potrošnje i proizvodnje (4,95 miliona tona) je u Italiji, Severnoj Americi, Južnoj Americi, Aziji, Africi i Turskoj (International Grains Council, 2020). Programi oplemenjivanja durum pšenice u Srbiji su manji u odnosu na običnu pšenicu. Ipak, to ne umanjuje njen značaj jer je kvalitetna sorta durum pšenice neophodna za mlinarsku industriju i industriju testenina (Takač i sar., 2019).

Ječam je značajna ratarska kultura koja se gaji širom sveta zahvaljujući sposobnosti lakog prilagođavanja nepovoljnim klimatskim i zemljišnim uslovima. Približno 65% od ukupne proizvodnje ječma koristi se za ishranu životinja, 30% za pravljenje slada i u pivskoj indistriji, a samo 2-3% za ljudsku ishranu (Aldughpassi, 2016). Pored toga, ječam se koristi i kao celo zrno, brašno od sirovog zrna, integralno ječmeno brašno, brašno za proizvodnju muslija, hlebnih proizvoda (hleba, tosta), nudli i kaša (Arendt and Zannini, 2013). Ječam je peti usev po proizvodnji u svetu. Godišnje se gaji na oko 52 miliona hektara, sa prinosom od 158 miliona tona. Najveći proizvođač je Rusija sa proizvodnjom od 18 miliona tona godišnje. Zatim slede Francuska, Nemačka, Kanada, Australija i Španija (FAO, 2019). U Srbiji se gaji na 100 118 ha obradive površine, sa proizvodnjom od 373 340 tona i prinosom od 3729 t/ha (FAO, 2019). Ječam je na drugom je mestu po zastupljenosti strnih žita u Srbiji (Novković et al., 2020).

Tritikale je hibrid pšenice i raži ukršten u nameri da objedini pozitivne karakteristike ove dve biljne vrste, kao što su visok sadržaj proteina iz raži i gluten iz

pšenice (**Dubat et al., 2013**). Triticale ima brz rast i tolerantnost prema niskim temperaturama (**Furman, 2016**). Nutritivna vrednost tritikalea je veća od raži, a krmna proizvodnja je veća nego kod pšenice. U povoljnim uslovima gajenja moguće je više puta izvršiti žetvu (**Beck et al., 2020**). Triticale se koristi kao stočna hrana (**Furman, 2016**). U svetu se gaji na oko 3,8 miliona hektara obradivih površina sa prosečnim prinosom od 3693 t/ha i proizvodnjom od 14 miliona tona. Najveća proizvodnja tritikalea zabeležena je u Evropi i iznosi oko 12 miliona tona, od čega je polovina u Poljskoj (4 miliona tona) i Nemačkoj (2 miliona tona). Značajni proizvođači su i Francuska, Belorusija i Španija (**FAO, 2019**). U Srbiji tritikale se gaji na 25 725 ha obradive površine, sa godišnjom proizvodnjom od 102 231 tona i prinosom od oko 4000 t/ha (**FAO, 2019**).

2.2. Fuzarioze strnih žita

2.2.1. Geografska rasprostranjenost i ekonomski značaj fuzarioza

Rod *Fusarium* spp. je kompleksan rod, čije se vrste odlikuju izuzetnom varijabilnošću u pogledu morfoloških, fizioloških, genetičkih i ekoloških karakteristika. Zbog visoke varijabilnosti, ove vrste su rasprostranjene širom sveta i većinom su kosmopoliti. Određeni broj vrsta koncentrisan je na tropska i suptropska područja dok neke vrste opstaju u umerenim i hladnim klimatima, uključujući Kinu, Severnu Ameriku, Južnu Afriku i Evropu (**Kemp et al., 1996; McMullen et al., 1997; Gortz et al., 2008; Covarelli et al., 2012; Duan et al., 2016**). Rod *Fusarium* ima širok krug domaćina među kojima se po značaju izdvajaju kukuruz, pirinač i strna žita na kojima izaziva razna oboljenja koje se označavaju kao fuzarioze (**Abbas et al., 1999; Desjardins et al., 2000; McMullen et al., 2012; Kelly et al., 2015**).

Fuzarioze su jedno od najznačajnijih oboljenja strnih žita. Fuzarioza klasa je ekonomski značajna bolest koja se javlja na svim strnim žitima (pšenica, ječam, raž, ovas i tritikale), a najzastupljenija je na pšenici i ječmu gde dovodi do najvećih ekonomskih gubitaka (**Matny, 2015**). Fuzarioza klasa je prvi put zabeležena 1884. godine u Engleskoj, a zatim se širi u Sjedinjene Američke Države (**Goswami and Kistler, 2004**). Od tada se epidemije javljaju širom sveta (**Parry et al., 1995; Stack, 2003**). Intenzitet epidemija kao i geografska rasprostranjenost zavisi od vremenskih uslova, što je posledica klimatskih promena (**Kriss et al., 2012; Parikka et al., 2012; Patausso et al., 2012**). Razni modeli za predviđanje budućih epidemija prognoziraju značajnije pojave fuzarioza, više koncentracije mikotoksina u zrnima, veće gubitke u prinosu na lokacijama gde je prisutna epidemija, kao i proširenje žarišta na lokacije gde pojava ovog oboljenja još uvek nije zabeležena (**Madgwick et al., 2011**).

Fuzariozu klasa prouzrokuje nekoliko vrsta roda *Fusarium*. Najveću učestalost ima vrsta *F. graminearum*. Ova vrsta je rasprostranjena u južnoj Evropi (**Boutigny et al., 2014**), Americi (**McMullen et al., 2012**) i Aziji (**Puri, 2012**), međutim, utvrđeno je da se širi i prema hladnijim delovima Evrope kao što su Finska, Rusija i Švedska (**Yli-Mattila et al., 2008; Fredlund et al., 2013**). Druge vrste ovog roda koje izazivaju fuzariozu klasa su: *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae* i vrste *F. fujikuroi* kompleksa (**Bottalico and Perrone 2002; Yli-Mattila et al., 2008; Hogg et al., 2010; Stenglein, 2012; Covarelli et al., 2013**).

Neke vrste ovog roda mogu da sintetišu mikotoksine koji dovode do velikih gubitaka prinosa širom sveta i dodatno ugrožavaju bezbednost hrane (Wu, 2007; Drakopoulos et al., 2020). Kao posledica prisustva mikotoksina prehrambeni proizvodi dobijeni od kontaminiranih zrna su lošeg kvaliteta, i samim tim smanjen je prihod od trgovine ovim proizvodima (Shah et al., 2017). Međunarodni centar za poboljšanje kukuruza i pšenice (The International Maize and Wheat Improvement Centre - CIMMYT) označio je fuzarioze klasa kao veliku opasnost za proizvodnju pšenice na svetskom nivou (Goswami and Kistler, 2004). Prema izveštaju Svetske zdravstvene organizacije (Food and Agriculture Organization-FAO), u svetu godišnje je 25% poljoprivrednih proizvoda kontaminirano mikotoksinima, što dovodi do ekonomskih gubitaka (Huong et al., 2016; Deepa and Sreenivasa, 2019; Sun et al., 2020). Sprovedena su brojna istraživanja kako bi se izračunale štete koje vrste roda *Fusarium* izazivaju u usevima strnih žita. Istraživanjima su obuhvaćeni usevi sa probnim tretmanima fungicidima, usevi u kojima je došlo do prirodne infekcije i usevi u kojima je primenjena veštačka inokulacija. Ustanovljeno je da pojava fuzarioze klasa dovodi do ekonomskih šteta kroz smanjenje kvaliteta i kvantiteta prinosa, proizvedeno seme je sitnije, smežurano, obezbojenog izgleda sa niskim sadržajem proteina, što prouzrokuje smanjenja prinosa za 50-61% (McMullen et al., 2012; Wegulo et al., 2011; Matny, 2015; Friskop et al., 2021).

Mikotoksini dospevaju u organizam ljudi i životinja putem ishrane konzumacijom kontaminiranih prehrambenih proizvoda. Vrste *F. fujikuroi* kompleksa sintetišu fumonizine koje je Međunarodna organizacija za istraživanje raka (International Agency for Research of Cancer-IARC) označila kao potencijalno kancerogene za ljude (IARC, 2002). Zbog ovoga je njihov značaj u proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane u našoj zemlji veoma velik zbog velike zastupljenosti pšeničnog hleba u ljudskoj ishrani (Đekić et al., 2019).

2.2.2. Simptomi oboljenja

Fuzarioze prouzrokuju različite vrste iz roda *Fusarium*, što nekad zavisi i od geografskog regiona i uslova spoljašnje sredine (Dean et al., 2012). Fuzarioze su kompleksno oboljenje koje se ispoljava u vidu propadanja klijanaca, truleži korena i prizemnog dela stabla, uvenuća biljaka i obezbojavanja klasova. Prvi simptomi fuzarioza nastaju ubrzo nakon cvetanja, u mlečnoj i voštanoj zrelosti strnih žita. Zaraženi klasići su slamnastožute boje kako se patogen razvija i širi kroz klas (Parry et al., 1995; Goliński et al., 2010). Jedan ili više klasića koji se nalaze na vrhu, sredini ili pri dnu klasa mogu da promene boju. Vremenom, prevremeno izbeljivanje klasića može da se nastavi kroz ceo klas. U vlažnim uslovima mogu da se jave spore na cvetnoj dršci i plevicama na pojedinim klasićima. Kasnije tokom sezone, na površini zaraženih klasića razvijaju se peritecije (Turkington et al., 2014). Zaražena zrna su manja, obezbojena, smežurana i slabe konzistencije (Parry et al., 1995; Goliński et al., 2010).

2.2.3. Ciklus razvoja patogena

Smatra se da su seme i biljni ostaci primarni izvor inokuluma *Fusarium* spp. kao prouzrokovača fuzarioza strnih žita. To mogu biti askospore, fragmenti hifa, makrokonidije ili hlamidospore (Parry et al., 1995; Tekauz et al., 2008; Tekle et al., 2013). Mogu se održavati kao saprofiti na biljnim ostacima i u zemljištu, što može da bude izvor inokuluma

za sledeću sezonu (Parry et al., 1995; Köhl et al., 2007; McMullen et al., 2012; Hofgaard et al., 2016). Loša obrada zemljišta povećava količinu biljnih ostataka na površini zemljišta i dovodi do povećanja inokuluma (Köhl et al., 2007; McMullen et al., 2012; Hofgaard et al., 2016).

Period infekcije klasa je ograničen, i traje od pojave klasića do cvetanja (Gilchrist et al., 1997). Otvoren cvet za vreme polinacije je najosetljivije mesto za infekciju. Infekcija se ostvaruje kroz antere. Antere sadrže komponente holin i betain, koje stimulišu razvoj gljive (Cook, 1981). Ako se antere zaraze odmah nakon pojave, gljiva kolonizuje i suši cvetove i zrno se ne razvija. Ako se zaraza ostvari kasnije, razvijaju se smežurana i deformisana zrna. Zrna koja su zaražena *Fusarium* spp. u kasnijim fazama razvoja mogu biti kontaminirana mikotoksinima i pored toga što ne ispoljavaju simptome fuzarioze (Schmale III and Bergstrom, 2003).

Najznačajnija vrsta *F. fujikuroi* kompleksa, *F. verticillioides* ima anamorfni i teleomorfni stadijum. Za kompletiranje polnog reproduktivnog ciklusa u prirodi potrebno je oko dve nedelje (Blacutt, 2018). Peritecije dozrevaju i oslobađaju askospore početkom leta u toplim i vlažnim uslovima. Askospore prodiru kroz povrede izazvane gradom, insektima ili pticama. Još jedan način prodiranja je kroz koren biljke. Gljiva prolazi korteks korena i dolazi do spovodnog tkiva, ksilema čime zaustavlja tok biljnog soka, što vremenom dovodi do prestanka rada vaskularnog sistema biljke. Na taj način sprečena je apsorpcija i translokacija hranljivih materija. Kao rezultat, stome se zatvaraju, lišće vene i na kraju biljka odumire (Martinez-Espinoza, 2015). Životni ciklus *F. proliferatum* nije u potpunosti proučen, ali smatra se da postoje sličnosti sa životnim ciklusom vrste *F. verticillioides* (Munkvold and Desjardins, 1997; Battilani et al., 2003). Vrsta *F. subglutinans* se prenosi semenom. Ovaj patogen izaziva fuzarioze klipa kukuruza i sušenje klijanaca čime se smanjuje klijavost (Leslie and Summerell, 2006).

Idealni uslovi za ostvarivanje infekcije i nastanak fuzarioza uglavnom su slični za sve vrste: umerene temperature i kišoviti uslovi ili visoka vlažnost za vreme cvetanja strnih žita. Međutim, postoje neke razlike u temperaturnim uslovima kod pojedinih vrsta roda *Fusarium*. *In vitro* istraživanja su pokazala da izolati poreklom iz različitih predela imaju optimalne temperature u skladu sa zemljom iz koje potiču (De Wolf et al., 2003). U hladnijim vremenskim uslovima (15°C) vrsta *F. graminearum* je dominantna u odnosu na vrste iz *F. fujikuroi* kompleksa, dok pri temperaturama 25-30°C ove vrste koegzistiraju u istoj ekološkoj niši (Marín et al., 1998; Infantino et al., 2012).

2.2.4. Značajne vrste *Fusarium* spp. opisane na strnim žitima u svetu

Rod *Fusarium* je kosmopolitski, broji preko 330 vrsta i smatra se jednim od najznačajnijih rodova kojima pripadaju biljni patogeni (Dean et al. 2012). Dominantna vrsta koja prouzrokuje fuzariozu klasa strnih žita je *F. graminearum* zajedno sa 16 vrsta koje pripadaju njenom kompleksu (Yli-Mattila, 2010; Aoki, 2014; Backhouse, 2014). Pored vrste *F. graminearum*, česti patogeni pšenice i ječma su *F. culmorum*, *F. avenaceum* i *F. poae* (Wagacha and Muthomi, 2007; Stenglein et al., 2012; Wegulo et al., 2015; Tufan et al., 2017). Kasnija istraživanja su ukazala i na prisustvo vrsta *F. fujikuroi* kompleksa na zrnu pšenice (Ramirez et al., 2006; Desjardins et al., 2007).

U Francuskoj, najčešće vrste koje prouzrokuju fuzariozu klasa strnih žita su *F. graminearum*, *F. avenaceum* i *F. poae*. Ove vrste bile su najčešće izolovane vrste iz uzoraka

pšenice, durum pšenice, ječma i tritikalea tokom trogodišnjih istraživanja (**Orlando et al., 2019**). U Italiji dominantne vrste izolovane sa ječma su *F. poae* (37%), zatim *F. avenaceum* (23%), *F. graminearum* (22%) i *F. tricinctum* (7%) (**Beccari et al., 2018**). U Brazilu iz uzoraka ječma najviše izolovane su sledeće vrste: *F. graminearum* (23,4%), *F. avenaceum* (23,4%) i *F. poae* (17,2%). U manjem procentu izolovane su *F. verticillioides* (3,1%), *F. proliferatum* (3,1%) i *F. oxysporum* (1,6%) (**Piacentini et al., 2019**).

Tokom 2009. i 2010. godine, u Italiji, najčešće izolovane vrste iz zrna durum pšenice bile su *F. graminearum*, *F. avenaceum* i *F. poae* (**Covarelli et al., 2015**). Iz zrna durum pšenice u prirodnoj infekciji izolovane su vrste *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans* (**Palacios et al., 2011; Gorczyca et al., 2017**) i *F. culmorum* (**Pastuszek et al., 2021**).

Na zrnu tritikalea u Mađarskoj zabeleženo je prisustvo vrsta *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F. avenaceum* i *F. eguisei* (**Mankevičienė et al., 2008**). Rezultati istraživanja koja su sprovedena od 2016-2018. godine u Litvaniji, pokazala su da su dominantne vrste na zrnu tritikalea bile *F. sporotrichioides*, *F. graminearum* i *F. avenaceum* (**Kochiieru et al., 2020**). U Kazahstanu na zrnu tritikalea identifikovane su vrste *F. culmorum* i *F. avenaceum* (**Alkan et al., 2021**).

2.2.5. Značajne vrste *Fusarium* spp. opisane na strnim žitima u Srbiji

Fuzarioze klasa su prisutne na našim žitaricama i u zavisnosti od vremenskih uslova prouzrokuju manje ili veće štete. Bolest se javlja u doba cvetanja pšenice. U našim uslovima je to u prvoj polovini maja (**Marić i Jevtić, 2001**).

Vrste roda *Fusarium* izolovane su iz preko 100 biljnih vrsta u Srbiji. Sa ekonomskog aspekta najznačajnije su vrste koje su patogeni kukuruza i strnih žita (**Lević, 2008; Lević i sar., 2008**). Najučestalija vrsta na pšenici je *F. graminearum*, dok vrste *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. tricinctum* i *F. sporotrichoides* imaju srednju učestalost (**Lević et al., 2009**).

Prema analizama uzoraka zrna pšenice tokom dve godine, *F. graminearum* i *F. verticillioides* su bile najučestalije 2002. godine, dok su vrste *F. poae* i *F. proliferatum* bile zastupljenije u 2003. godini (**Dopuđa i Lević, 2004**). Rezultati dvogodišnjih istraživanja **Stanković et al. (2007)** su ukazali na visoku zastupljenost *Fusarium* vrsta na zrnu pšenice i to od 9,4% do 84,0% u 2005. godini i od 23,4% do 80,6% u 2006. godini. Najveću učestalost je imala vrsta *F. graminearum* (35,2%), zatim slede vrste *F. poae* (20,4%) u 2005. godini i *F. proliferatum* u 2006. godini (20%). Istraživanja iz 2007. godine u Srbiji su pokazala da su na zrnu pšenice bile zastupljene sledeće vrste roda *Fusarium*: *F. graminearum*, *F. sporotrichoides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. semitectum*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides* i *F. poae* (**Krnjaja et al., 2008**). Na zrnu pšenice 2011. godine najzastupljenija vrsta roda *Fusarium* je bila *F. graminearum* i to u 99,05% uzoraka, dok su u malom procentu zabeležene vrste *F. proliferatum* (0,05%), *F. poae* (0,05%), *F. verticillioides* (0,05%), *F. sporotrichoides* (0,4%) i *F. subglutinans* (0,4%) (**Krnjaja et al., 2011b**). **Lević et al. (2012b)** su na pšenici opisali sledeće vrste: *F. chlamyosporum*, *F. oxysporum* i *F. solani* na klasićima, a *F. arthrosporioides*, *F. sporotrichoides* i *F. avenaceum* na zrnu pšenice. Na klasićima i zrnu izolovane su vrste *F. graminearum* i *F. poae* kao i vrste *F. fujikuroi* kompleksa, od kojih je najzastupljenija bila vrsta *F. verticillioides*, dok su vrste *F. proliferatum* i *F. subglutinans* bile zastupljene u nižem procentu.

Iz zrna ječma izolovane su sledeće vrste roda *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. semitectum*, *F. subglutinans* i *F. tricinctum*. Najzastupljenije vrste bile su *F. graminearum*, *F. poae* i *F. sporotrichoides* (Lević et al., 2009; Lević et al., 2012a). Na zrnu tritikalea prvi put u Srbiji identifikovana je vrsta *F. verticillioides* (Savić et al., 2022).

2.2.6. Vrste *Fusarium fujikuroi* kompleksa

Fusarium fujikuroi kompleks vrsta (FFSC) je jedan od najvećih i najviše proučenih u okviru roda *Fusarium* (Sandoval-Denis et al. 2018a, 2018b; Al-Hatmi et al., 2019). Ovaj kompleks je na osnovu morfoloških karakteristika prvi su opisali Wollenweber and Reinking (1925) kao sekciju *Liseola* kojoj pripadaju vrste koje formiraju makrokonidije u sporodohijama, mikrokonidije u lancima i / ili lažnim glavicama, i ne formiraju hlamidospore. Pored morfoloških karaktera mnoge vrste su definisane na osnovu bioloških karaktera. Međutim, kod vrsta koje ne formiraju polni stadijum, ovaj biološki koncept nije mogao da bude zadovoljen. Molekularna ispitivanja su pokazala parafiletsko poreklo sekcije *Liseola* zbog čega je uveden pojam kompleksa vrsta (O'Donnell et al. 1998, 2000) i do sada je opisano više od 60 filogenetski različitih vrsta u okviru kompleksa *F. fujikuroi* (Crous et al., 2021; Yilmaz et al., 2021).

Tokom godina, vrste roda *Fusarium* u okviru *F. fujikuroi* kompleksa su bile detaljno proučavane zbog njihove sposobnosti da izazovu razna oboljenja na biljkama, pri tom produkujući mikotoksine koji mogu da dovedu do mikotoksikoza kod ljudi i životinja (Nirenberg and O'Donnell, 1998; Munkvold, 2017; Al-Hatmi et al., 2019). Biogeografska hipoteza koju je postavio O'Donnell et al. (1998) razvijena je zbog *F. fujikuroi* kompleksa. Ovom hipotezom izolati su grupisani u tri klastera sa filogenetski blisko srodnim vrstama – Afrički, Američki i Azijski klaster. Naknadnim istraživanjima Afrički klaster je podeljen na dva ogranka (A i B) (Herron et al., 2015; Sandoval-Denis et al., 2018b). Jezgro Afričkog klastera A uključuje vrste kao što su *F. verticillioides* i *F. xylarioides*, dok Afrički klaster B uključuje vrste *F. fredkrugeri* i *F. dlaminii* (Geiser et al., 2005; O'Donnell et al., 2018; Sandoval-Denis et al., 2018b). Američkom klasteru pripadaju vrste *F. circinatum* i *F. temperatum* (Aoki et al., 2014; Fumero et al., 2015). Azijski klaster uključuje vrste kao što su *F. mangiferae* i *F. proliferatum* (Britz et al., 2002; Leslie and Summerell, 2006). Zbog velike varijabilnosti i brojnosti najnovija revizija taksonomije ovog roda usmerava na polifazni pristup koji obuhvata morfološke, biološke i molekularne karakteristike i filogenetsku analizu (Crous et al., 2021; Yilmaz et al., 2021).

Najznačajnije vrste *F. fujikuroi* kompleksa su *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nirenberg, *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg i *Fusarium subglutinans* (Wollenweber & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas (O'Donnell et al., 1998; Leslie and Summerell, 2006; Munkvold, 2017).

F. verticillioides je kosmopolitska vrsta koja je najčešća u tropskim i suptropskim regionima. Primarni domaćin je kukuruz na kome izaziva plesnivost klipa (Oren et al., 2003; Alberts et al., 2016). Drugi domaćini ove vrste su pirinač na kome dovodi do bolesti koja je poznata pod nazivom "bakanae" (Desjardins et al., 2000; Ghiasian et al., 2004), šećerna trska (Mohammadi et al., 2012), banana (Anthony et al., 2004), asparagus (Elmer, 2000; Corpas-Hervias, 2006) i sirak (Tesso et al., 2004). Prisustvo *F. verticillioides* vrste u visokom procentu utvrđeno je i u mešavini hrane za živinu, kao i u

stočnoj hrani na bazi kukuruza i pšenice (Regina et al., 2007). Zabeležena je i na strnim žitima kao što su pšenica (Desjardins et al., 2007), durum pšenica (Palacios et al., 2011; Gorczyca et al., 2017) i ječam (Piacentini et al., 2015). U Srbiji prisustvo *F. verticillioides* zabeleženo je na kukuruzu (Lević i sar., 2001), sirku (Lević et al., 2009) pšenici (Dopuđa i Lević, 2004; Stanković et al., 2007; Krnjaja et al., 2008; Tančić i sar., 2009; Krnjaja et al., 2011a, 2011b; Lević et al., 2012b; Savić et al., 2021), ječmu (Lević et al., 2009; Lević et al., 2012a), hmelju (Stanković et al., 2008), lucerki (Krnjaja et al., 2003) i lekovitom bilju (Pavlović et al., 2008). *F. verticillioides* sintetiše mikotoksine kao što su fumonizini (FB₁, FB₂ i FB₃) u visokim koncentracijama, fuzarinsku kiselinu i fuzarin C u nižim koncentracijama, i u tragovima sintetiše bovericin, giberelin i moniliformin (Logrieco et al., 2003; Ghiasian et al., 2004; Deepa and Sreenvasa, 2017).

Vrsta *F. proliferatum* je rasprostranjena širom sveta i smatra se umereno agresivnim patogenom (Stepień et al., 2011). Ima širok krug ekonomski značajnih domaćina kao što su kukuruz, šećerna trska (Alizadeh et al., 2010), pšenica (Ramirez et al., 2006), ječam (Piacentini et al., 2015), durum pšenica (Amato et al., 2015), asparagus (Wong and Jeffries, 2006), banana (Kamel et al., 2016), citrusi (Hyun et al., 2000), pirinač (Desjardins et al., 2000), soja (Chang et al., 2020), luk (Carrieri et al., 2013), ovas (Molnár, 2016), lucerka (Cong et al., 2016) i drugi. U Srbiji je opisana na kukuruzu, sirku, pšenici (Dopuđa i Lević, 2004; Stanković et al., 2007; Krnjaja et al., 2008; Tančić i sar., 2009; Krnjaja et al., 2011a, 2011b; Lević et al., 2012b), ječmu (Lević et al., 2009; Lević et al., 2012a), lucerki (Krnjaja et al., 2003), belom luku (Stanković et al., 2005), lekovitom bilju (Pavlović et al., 2008) i semenu anisa (Pavlović et al., 2016). *F. proliferatum* sintetiše mikotoksine fumonizine, od kojih je najzastupljeniji fumonizin B₁ (FB₁). Pored fumonizina, sintetiše i druge mikotoksine i biološki aktivne metabolite, uključujući bovericin, enijatin, fuzarinsku kiselinu, fuzarin, fuzaproliferin i moniliformin (Logrieco et al., 2003; Amato et al., 2015; Munkvold et al., 2017).

Vrsta *F. subglutinans* je značajna kosmopolitska vrsta koja na kukuruzu, koji je njen primarni domaćin, izaziva bolesti kljanaca, plesnivost stabljike i klipa (Fumero et al., 2015). Pored kukuruza domaćini ove vrste su mango (Steenkamp et al., 2000), ananas (De Matos and Cabral, 2006), bor (Storer et al., 1998) i šećerna trska (Mohammed and Al-Ani, 2021). Na strnim žitima, prisustvo ove vrste zabeleženo je na pšenici (Ramirez et al., 2006), durum pšenici (Palacios et al., 2011) i ječmu (Ivić et al., 2011). U Srbiji, prisustvo ove vrste zabeleženo je na kukuruzu, sirku (Lević i sar., 2008), pšenici (Stanković et al., 2007; Krnjaja et al., 2011a, 2011b; Lević et al., 2012b), ječmu (Lević et al., 2009; Lević et al., 2012a), lekovitom bilju (Pavlović et al., 2008) i lucerki (Krnjaja et al., 2003). *F. subglutinans* je toksigena vrsta, a sinteza fumonizina zavisi od izolata. Uglavnom sintetiše fumonizine u niskim koncentracijama ili ih ne sintetiše, dok bovericin, fuzariproliferin, moniliformin i enijatine sintetiše u značajnim koncentracijama (Logrieco et al., 1998; Gromadzka et al., 2016). Moniliformin je toksičan za životinje i biljke dok bovericin i fuzariproliferin imaju toksičan efekat na insekte, ljudske ćelije, embrione kod živine i imaju važnu ulogu u bolestima biljaka i životinja. Bovericin je entomopatogen i izuzetno toksičan za insekte (Logrieco et al., 1998; Fumero et al., 2015, 2020).

2.2.7. Fuzariotoksini

Značajan aspekt vrsta roda *Fusarium* je njihova sposobnost da sintetišu mikotoksine koji se označavaju kao fuzariotoksini. Najznačajniji fuzariotoksini su deoksinivalenol i njegovi derivati (3-acetil deoksinivalenol i 15-acetil deoksinivalenol), nivalenol, T-2 toksin, zearealenon, fuzarinska kiselina i fumonizini (**Bottalico and Perrone, 2002; Schollenberger et al., 2006; Tian et al., 2016**). U biljkama koje su zaražene toksigenim vrstama roda *Fusarium* u toku vegetacije, žetve i skladištenja, mikotoksini se nagomilavaju i dospevaju u biljne proizvode ili nakon konzumiranja kontaminirane stočne hrane u animalne prerađevine. Zbog toga, meso i mesni proizvodi, mleko i mlečni proizvodi i jaja mogu da predstavljaju opasnost po zdravlje ljudi. Njihovo izuzetno štetno dejstvo kod ljudi i životinja se ogleda u hepatotoksičnom, nefrotoksičnom i neurotoksičnom efektu (**Sudakin, 2003; Stoev, 2013; Braun and Wink, 2018**). Mikotoksini su stabilni u prirodi i ne eliminišu se u potpunosti prilikom prerade hrane, kao ni pasterizacijom (**Bottalico and Perrone, 2002; Logrieco et al., 2003; Desjardins, 2006**). Kontaminacija hrane mikotoksinima zavisi od mnogih faktora kao što su vremenski uslovi (suv period nakon koga dolazi toplo i vlažno vreme u periodu cvetanja), sistem gajenja, način i datum žetve, kao i stepen otpornosti biljke na infekciju *Fusarium* spp. (**Goliński et al., 2010; Hofgaard et al., 2016**). Zbog visoke toksičnosti i rasprostranjenosti širom sveta, brojne evropske zemlje su donele odluku o maksimalnoj dozvoljenoj koncentraciji u hrani za najznačajnije mikotoksine (**Commission regulation, 2006**).

Jedna od najznačajnijih grupa mikotoksina su fumonizini koje sintetišu vrste *F. verticillioides* i *F. proliferatum* u višim, i vrsta *F. subglutinans* u nižim koncentracijama (**Ross et al., 1990; Rheeder et al., 2002; Braun and Wink, 2018**). Prvi put su izolovani i dokazani 1988. godine (**Gelderblom et al., 1988**). Široko su rasprostranjeni u prirodi. Najčešće se javlja FB₁, zatim sledi FB₂ pa FB₃ (**Voss et al., 2011; Coppock and Dziwenka, 2014**). Od ukupno sintetisanih fumonizina, FB₁ čini 70-80% i predstavlja najveću opasnost sa toksikološke strane gledišta (**Szécsi et al., 2010**). Kontaminacija zrna žita mikotoksinima je jedan od posebno važnih problema u svetskoj poljoprivredi (**Salgado et al., 2014; Kamle et al., 2019; Piacentini et al., 2019**). Ranija ispitivanja su pokazala visoke koncentracije fumonizina FB₁ u zrnu kukuruza i u proizvodima na bazi kukuruza (**FAO, 2021**). U Srbiji, a i u svetu su, po prvi put izolovani fumonizini na klasu pšenice 2009. godine. U uzorcima pšenice koji su sakupljeni od 2007. do 2009. godine (180 uzoraka) FB₁ je utvrđen u 60,6% uzoraka zrna pšenice (**Stanković et al., 2012**). Pojava fumonizina zabeležena je i u zrnu durum pšenice (**Palacios et al. 2011**) i ječma (**Park et al., 2002**).

Zbog značaja i učestalosti pojave fuzariotoksina, poslednjih godina radi se na razvoju efikasnih metoda za smanjenje pojave fuzarioze klasa, a samim tim i kontaminacije žita, stočne hrane i prehrambenih proizvoda mikotoksinima (**Mielniczuk and Skwarylo-Bednarz, 2020**).

2.3. Identifikacija *Fusarium* spp. na osnovu morfoloških karakteristika

Rod *Fusarium* spp. je kompleksan rod, čije se vrste odlikuju izuzetnom varijabilnošću u pogledu morfoloških, fizioloških, genetičkih i ekoloških karakteristika. Postoji nekoliko morfoloških karakteristika korisnih za razlikovanje vrsta na osnovu konvencionalnih metoda. Na osnovu morfoloških karakteristika kao što su izgled kolonije,

oblik makrokonidija, mikrokonidije, hlamidospore i druge mikroskopske karakteristike, moguće je identifikovati najvažnije patogene i toksigene vrste roda *Fusarium* (Dongyou, 2009).

Prisustvo makrokonidija, specifičnog srpastog oblika smatra se glavnom karakteristikom na osnovu koje se vrste klasifikuju u rod *Fusarium*. Druga karakteristika koja pomaže pri klasifikaciji su mikrokonidije, čiji izgled i veličina variraju (Moretti, 2009). Vrste roda *Fusarium* dobile su naziv po fuzoidnom (vretenastom) obliku makrokonidija koji je opisao Link 1809. godine (Samuels et al., 2001). Prema klasifikaciji carstva Fungi, rod *Fusarium* je svrstan u razdeo Ascomycota, klasu Sordariomycetes, red Hypocreales i familiju Nectriaceae (Seifert and Lávésque, 2004).

Makroskopske karakteristike obuhvataju porast i izgled kolonija, boju vazdušne micelije, pigmentaciju podloge i prisustvo sklerocija. Varijabilnost vrsta roda *Fusarium* se najbolje uočava gajenjem ovih gljiva na krompir dekstroznoj podlozi (KDA) pri temperaturi 25°C (Nelson et al., 1983). Boja kolonije varira, pa osim burgund crvenog pigmenta mogu stvarati i sivkasto rozi pigment, karmin crveni, bež, sivoljubičast, tamnoljubičast do skoro crn (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Lević, 2008). Pigmentacija vazdušne micelije takođe varira, od krem ili boje lososa, do bele, bež i svetlo do tamno smeđe (Leslie and Summerell, 2006).

Mikroskopska svojstva obuhvataju izgled makrokonidija, prisustvo ili odsustvo mikrokonidija, mezokonidija i hlamidospora, kao i prisustvo ili odsustvo polifijalida. Makrokonidije sa bazalnom ćelijom u obliku stopala smatraju se karakterističnom odlikom *Fusarium* vrsta. Neke vrste kao što su *F. verticillioides* i *F. poae* retko formiraju makrokonidije. Oblik makrokonidija varira od vrste do vrste i može biti izduženog oblika (*F. semitectum*), oblika igle (*F. avenaceum*), skoro prave (*F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. graminearum*, *F. semitectum*), blago zakrivljene (*F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. graminearum*) i drugi. Oblik vršne i bazalne ćelije su takođe ključni za identifikaciju *Fusarium* vrsta, a mogu biti u obliku papile (*F. sambucinum*), prstaste (*F. culmorum*), končaste i savijene (*F. equiseti*), kratke i jako savijene (*F. sporotrichoides*), kupaste (*F. graminearum*) ili klinaste (*F. semitectum*). Mezokonidije formiraju samo neke vrste kao što su *F. subglutinans*, *F. sporotrichoides*, *F. semitectum*, *F. avenaceum* i druge (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Lević, 2008). Mikrokonidije ne formiraju sve vrste ovog roda. Kod vrsta koje ih formiraju, mikrokonidije se razvijaju na vazdušnoj miceliji, bilo u grupama ili u lancima, na monofijalidama i polifijalidama. Njihov oblik varira, a može biti: okrugao, kruškast, limunast, bubrežast i slično. Obično su jednoćelijske ili sa 1-2 septe. Hlamidospore stvaraju samo neke vrste ovog roda. Varijabilnost formiranja hlamidospora je velika, zbog čega ova karakteristika nije pouzdana u taksonomiji (Leslie and Summerell, 2006; Sen and Asan, 2009).

2.3.1. Morfološke karakteristike vrste *Fusarium verticillioides*

Makroskopske karakteristike

Micelija raste veoma brzo, obrazujući kolonije prečnika u rasponu od 69 do 80 mm nakon sedam dana pri temperaturi od 25°C u tami (Lević, 2008; Yilmaz et al., 2021). Vazdušna micelija je obilna, pamučasta ili u vidu kadife, praškastog izgleda zbog prisustva

mase mikrokonidija, bela ili sivkastoljubičasta do sivkastoplava kod starijih kultura. Pigment u podlozi je mrkožut, ljubičastosiv, tamnoljubičast do skoro crn, purpuran ili odsutan. Odsutan je miris (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Yilmaz et al., 2021).

Mikroskopske karakteristike

Sporodohije su bledonarandžaste do mrke, po pravilu odsutne. Makrokonidije su blago srpaste do skoro prave, paralelne dorzo-ventralne strane, tankih zidova, duge i uske sa tri (18-61 x 2-4,2 μm) do pet poprečnih pregrada (39-73 x 2,4-4,3 μm). Vršne ćelije su neznatno sužene i savijene, dok su bazalne ćelije oblika stopala (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Yilmaz et al., 2021). Samuels et al. (2001) navode prosečnu veličinu makrokonidija od 54,2 x 3,5 μm , kao i makrokonidija sa pet poprečnih pregrada veličine 47-58 x 3-3,5 μm . Mezokonidije nisu utvrđene. Mikrokonidije se obrazuju na monofijalidama u vidu dugih nizova, oblika palice sa zaravnjenom osnovom, najčešće neseptirane, a retko sa jednom do dve poprečne pregrade (4-19 x 1,5-4,5 μm). Konidiofori su tipa monofijalida, izduženi (14-32 x 2-3,5 μm) na hifi, a kraći (11-21 x 2,5-4,5 μm) u sporodohijama. Hlamidospore nisu utvrđene. Formiraju i plavičasto-crne sklerocije (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Yilmaz et al., 2021).

Polni stadijum

Ova vrsta ima heterotalusni sistem razmnožavanja, a pripada tipu sparivanja A, C ili F populacija. Teleomorf ove vrste je *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Wr. syn. *G. moniliformis* (Win.). Peritecije su tamnoplave, okrugle do konusne i sa neravnom površinom, veličine 250-330 x 220-280 μm . Askusi su prozirni, elipsoidni do oblika palice, sa četiri do osam askospora koje su bezbojne i uglavnom sa jednom, a ponekad i sa tri septe. Veličina askusa je 90-102 x 7-9 μm (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006).

2.3.2. Morfološke karakteristike vrste *Fusarium proliferatum*

Makroskopske karakteristike

Micelija raste veoma brzo na krompir dekstroznoj podlozi (KDA), obrazuje kolonije prečnika 75-80 mm nakon osam dana pri temperaturi 25°C u tami. Vazдушna micelija je pamučasta, ponekad nalik na kadifu, bela do ružičastomrkožuta, a sivkastoljubičasta do tamnoljubičasta u starijim kulturama. Pigment u podlozi je sivkastonarandžast, ljubičastosiv, tamnoljubičast ili skoro crn (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Lević, 2008; Yilmaz et al., 2021).

Mikroskopske karakteristike

Konidiofore se teško uočavaju na podlozi sa sterilnim fragmentima lista karanfila (CLA), proređene su na vazdušnoj miceliji, prave ili savijene, glatkih i tankih zidova, obično

nerazgranate ili nepravilno razgranate ili smanjene do konidioogenih ćelija koje se formiraju bočno na hifama. Konidiofore mogu biti u vidu monofijalida i polifijalida, zašiljene do zaobljene, glatke sa tankim zidovima. Monofijalide mogu biti nerazgranate i razgranate (12-23 x 3,2-4,2 μm), a polifijalide imaju više od dva konidiogena mesta (11-32 x 2,3-3,5 μm). Mikrokonidije se formiraju iz monofijalida i polifijalida u kraćim nizovima. Najbrojnije mikrokonidije su oblika palice sa zaravnjenom osnovom, jednoćelijske (5-15 x 3,3-12,4 μm). Pored mikrokonidija sa jednom septom, postoje i neseptirane mikrokonidije koje su kruškastog oblika, glatkih i tankih zidova. Njihove dimenzije su 3-16 x 1,2-5,3 μm . Mezokonidije nisu utvrđene. Makrokonidije su blago srpaste do skoro prave, paralelne dorzi-ventralne strane, tankih zidova, duge i uske sa tri (19-59 x 2,6-5 μm) do pet (39-79 x 3-5 μm) poprečnih pregrada. Vršne ćelije su savijene, dok su bazalne slabo razvijenog oblika stopala. Sporodohije su bledonarandžaste do mrke, po pravilu odsutne ili se formiraju nakon dve nedelje. Hlamidospore nisu utvrđene (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Aoki et al., 2014; Sandoval-Denis et al. 2018a, 2018b; Yilmaz et al., 2021).

Polni stadijum

Polni stadijum ove vrste je *Gibberella intermedia* (Kuhlman) Samuels et al. syn. *G. fujikuroi* (Sawada) var. *intermedia* Kuhlman. *F. proliferatum* ima heterotalusni način polnog razmnožavanja i pripada populaciji D u okviru kompleksa vrste *G. fujikuroi*. Peritecije su crnoplave, okrugle do ovalne sa ostiolom. Obično su pojedinačne, a ponekad su u grupama. Askusi sadrže osam askospora (Kerenyi et al., 1999; Leslie and Summerell, 2006).

2.3.3. Morfološke karakteristike vrste *Fusarium subglutinans*

Makroskopske karakteristike

Micelija na KDA podlozi raste veoma brzo, obrazuje kolonije prečnika 75-80 cm nakon osam dana pri temperaturi od 25°C u tami. Vazдушna micelija je pamučasta ili nalik kadifi, bela do sivkastoljubičasta ili ružičastomrka, ponekad sa ljubičastocrvenom nijansom. Pigment u podlozi je sivkastonarandžast do mrkožut, tamnoljubičast ili skoro crn (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Lević, 2008).

Mikroskopske karakteristike

Sporodohije su bledonarandžaste do mrke. Konidiofore su tipa monofijalida (12-15 x 2,5-3,5 μm) i tipa polifijalida ili simpodijalno razgranati konidiofori (6-33 x 3-4 μm). Mikrokonidije se obrazuju iz polifijalida i monofijalida u vidu lažnih glavica (nikada u nizu), ovalne, eliptične ili bubrežaste, neseptirane ili sa jednom poprečnom pregradom (4-20 x 1,5-4,7 μm). Mezokonidije se, kao i mikrokonidije, obrazuju iz monofijalida i polifijalida. Mogu biti prave ili blago savijene, vretenaste do kopljaste, zatupastog vrha (16-43 x 3-4,5 μm). Vršne ćelije su često neznatno asimetrične, dok su bazalne ćelije "odsečenog" vrha. Pod optimalnim uslovima preovladavaju mezokonidije sa tri pregrade (24-28 μm). Obrazovane su u parovima na polifijalidama i imaju izgled zečjih ušiju. Sklerocije su u vidu crnih telašca. Retko se obrazuju i predstavljaju visok potencijal ženske fertlnosti.

Makrokonidije su blago srpaste do skoro prave, paralelne dorzi-ventralne strane, tankih zidova, izdužene, sa tri (20-62 x 3-5,5 μm) do pet poprečnih pregrada (40-73 x 3,2-5,2 μm). Vršne ćelije su savijene i postepeno se sužavaju, dok su bazalne ćelije karakterističnog oblika stopala. Hlamidospore su odsutne (**Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006**).

Polni stadijum

Teleomorf *Gibberella subglutinans* (Edwards) Nelson, Toussin & Marasas syn. *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw. var. *subglutinans* (Edwards) povremeno se formira na biljnim ostacima. *F. subglutinans* ima heterotalusni način polnog razmnožavanja i pripada populaciji E u okviru kompleksa vrsta *G. fujikuroi*. Peritecije i askusi su slični onima koje obrazuje *F. verticillioides* (**Leslie and Summerell, 2006**).

2.4. Identifikacija *Fusarium* spp. primenom molekularnih analiza

Molekularne metode omogućile su da osobine genoma budu uključene u taksonomiju i identifikaciju gljiva (**Paminondas and Paplomatas, 2004**). Na osnovu molekularnih analiza **Watanabe et al. (2011)** su rekonstruisali filogenetsko stablo roda *Fusarium* po kome se ovaj rod deli na sledeće sekcije: *Arachnites*, *Arthrosporiella*, *Discolor*, *Elegans*, *Eupionnotes*, *Gibbosum*, *Lateritium*, *Liseola*, *Martiella*, *Ventricosum*, *Roseum*, *Spicarioides* i *Sporotrichiella*. Analize kao što su lančana reakcija polimeraze (PCR) pomoću specifičnih prajmera i sekvenciranja DNK postale su neophodne za identifikaciju do nivoa vrste (**Watanabe et al., 2011**). PCR je brza, osetljiva i specifična tehnika koja ima veliku perspektivu u patologiji semena zato što je potrebna mala količina DNK za identifikaciju biljnog patogena (**Machado et al., 2006**). **Geiser et al. (2004)** stvorili su prvu generaciju FUSARIUM- ID v.1.0 baze podataka koja sadrži sekvence gena na osnovu translacijskog elongacionog faktora 1- α (TEF 1- α). U početku je baza sadržala 441 sekvencu, da bi kasnije dostigla broj od 5560 sekvenci. Sekvencama se može pristupiti preko BLAST servera <http://isolate.fusariumdb.org/index.php>.

Različiti molekularni markeri se koriste za identifikaciju vrsta roda *Fusarium*. Ovi markeri zasnovani su na različitim genskim regionima kao što su jedarni geni ribozomalne RNK koji obuhvataju dva introna (ITS1 i ITS2), TEF 1- α , gen za RNK polimerazu 1 i 2 (RPB1 i RPB2) (**Geiser et al., 2004; Schoch et al., 2012; O'Donnell et al., 2013; Crous et al., 2021; Yilmaz et al., 2021**).

Internacionalno udruženje za barkodiranje gljiva (International Fungal Barcoding Consortium) je 2012. godine zvanično predložilo da se ITS koristi kao primarni barkod za gljive (**Schoch et al., 2012**). Ovaj region se koristi u brojnim istraživanjima u kojima se identifikacija gljiva vrši pomoću metode sekvenciranja (**O'Brien et al., 2005; Nilsson et al., 2011; Gencheva and Beev, 2020**). Pored toga što se ITS najčešće koristi za identifikaciju gljiva (**Schoch et al., 2012**), njegov značaj u identifikaciji vrsta roda *Fusarium* i mnogih drugih gljiva ograničena je činjenicom da ovaj region često ne može da razdvoji blisko srodne vrste u okviru kompleksa (**Bruns, 2001; Gazis et al., 2011; Du et al., 2012**). Regioni kojima je moguće to ostvariti su TEF1- α , RPB1 i RPB2 (**O'Donnell et al., 2010; Jiang et al., 2020; Crous et al., 2021; Yilmaz et al., 2021**). Za taksonomska istraživanja *F. fujikuroi* kompleksa vrsta, primarni barkod marker je TEF1- α (**O'Donnell et al., 1998; Yli-**

Mattila et al., 2002; Harrow et al., 2010; Crous et al., 2021). Za razliku od TEF1- α , čiji varijabilni introni mogu pouzdano da razdvoje blisko srodne vrste u okviru kompleksa, geni za RPB1 i RPB2 mogu da razdvajaju vrste u okviru roda *Fusarium* i smatraju se sekundarnim barkod markerima za identifikaciju *F. fujikuroi* kompleksa (**O'Donnell et al., 2013; Crous et al., 2021**).

Za identifikaciju vrsta razvijeni su specifični PCR prajmeri, ali u većini slučajeva njih je potrebno testirati, posebno ako se koriste izolati poreklom sa različitih useva i/ili geografskih područja (**Rahjoo et al., 2008**).

Za dokazivanje prisustva vrste *F. verticillioides* **Mulè et al. (2004)** su opisali par prajmera VER1/VER2 koji je dizajniran na osnovu dela gena za kalmodulin. Još jedan par prajmera koji se pokazao kao specifičan za ovu vrstu je FV-F2/FV-R koji umnožava sekvence *gaoB* gena (**Faria et al., 2012**). **Patiño et al. (2004)** razvili su set prajmera za detekciju *F. verticillioides* VertF1/VertR1 zasnovanih na genu za fumonizine (*FUM1*) koji amplifikuju fragmente dužine između 700-800 bp.

Mulè et al. (2004) dizajnirali su set prajmera PRO1/PRO2 specifičnih za detekciju vrste *F. proliferatum*. Ovi prajmeri su zasnovani na genu za kalmodulin. **Jahan Quazi et al. (2013)** razvili su set specifičnih prajmera ProF1/ProR1 zasnovanih na *FUM1* genu koji su u svim ispitivanim izolatima amplifikovali fragmente dužine od 500 do 600 bp.

Na osnovu gena za kalmodulin **Mulè et al. (2004)** su opisali i specifične prajmere SUB1/SUB2 za detekciju vrste *F. subglutinans*. Posebno korisna je Multipleks PCR metoda kojom je moguće korišćenjem F2/FV-R i FS-F1/FS-R prajmera amplifikovati *F. verticillioides* (370 bp) i *F. subglutinans* (649 bp) (**Möller et al., 1999; Faria et al., 2012**).

3. Materijal i metode

3.1. Sakupljanje uzoraka

Izolati korišćeni u ovoj doktorskoj disertaciji sakupljeni su iz skladišta, sedam dana nakon žetve, tokom četiri godine (2014.-2017.). Sakupljeni su uzorci zrna obične pšenice (*Triticum aestivum* L.), durum pšenice (*Triticum turgidum* var. *durum* Desf.), ječma (*Hordeum vulgare* L.) i tritikalea (*Triticosecale* Wittmack). Uzorci su sakupljeni iz skladišta sa ukupno 55 lokaliteta širom Srbije (Aleksa Šantić, Apatin, Batajnica, Bela Crkva, Besni Fok, Bresno Polje, Velika Plana, Veliki Senj, Vrbovsko, Globoderi, Glogonjski put, Dašnica, Dušanovac, Dužine, Žabare, Žabari, Zaječar, Zemun, Zemun Polje, Jabučki Rit, Jaša Tomić, Kikinda, Kladovo, Kobišnica, Kraljevo, Lužnica, Martinci, Mileševo, Miloševo, Mionica, Negotin, Nikolinci, Omoljica, Padinska Skela, Pančevo, Panonija, Plandište, Pobeda, Radojevački put, Radujevac, Rudnik, Ruma, Sakule, Samarinovac, Sirig, Sombor, Srbobran, Srpski Miletić, Stara Moravica, Stara Pazova, Stopanja, Surčin, Svilajnac, Trnjane i Čalma). Osnovni uzorak je formiran tako što su manji uzorci uzeti iz različitih delova skladišta pomešani u jedan uzorak. Osnovni uzorak podeljen je na četiri dela, i od svakog dela uzorkovano je po 0,5 kg zrna, ukupno 2 kg. Od svakog sakupljenog uzorka uzet je poduzorak od 400 zrna iz kojih je kasnije vršena izolacija gljiva.

3.2. Izolacija gljiva i dobijanje čistih kultura

Zrna strnih žita su površinski sterilisana 1% rastvorom natrijum hipohlorita u trajanju od 3 minuta nakon čega su ispirana sterilnom destilovanom vodom. Posle sušenja na filter papiru zrna su postavljana u Petri kutije prečnika 9 cm na krompir dekstroznu podlogu (KDA). Nakon sedmodnevnog gajenja pri temperaturi od 25°C posmatrane su kolonije gljiva razvijenih na i oko postavljenih zrna. Izolati koji su mikroskopskim pregledom imali karakteristike *Fusarium* spp. radi dobijanja čistih kultura presejane su na sintetičku nisku hranljivu podlogu (synthetic nutrient agar, SNA) i podlogu sa sterilnim fragmentima lista karanfila (carnation leaf agar, CLA) na kojima su gajene u režimu 12 h dan/12 h noć. Nakon sedam dana pod mikroskopom posmatrano je obrazovanje lanaca mikrokonidija iz monofijalida i polifijalida. Na osnovu ovih karakteristika izdvojeni su izolati i prečišćeni do monosporne kulture.

3.3. Dobijanje monosporijalnih izolata

Odabrani izolati presejani su na KDA podlogu na kojoj su gajeni sedam dana u termostatu pri temperaturi od 25°C. U epruvetu sa 10 ml sterilne destilovane vode, sterilnom iglom dodata je micelija gljive. Sadržaj epruvete je homogenizovan na mućkalici u trajanju od 10-15 sekundi nakon čega je 1 ml (razređenje 10^{-1}) ove suspenzije prenet na podlogu sa vodenim agarom (Water agar, WA) u Petri kutiju prečnika 9 cm. Zatim je napravljeno sledeće razblaženje (10^{-2}) tako što je 1 ml suspenzije iz epruvete sa 10 ml sterilne destilovane vode (prve epruvete) prenet u epruvetu sa 9 ml sterilne destilovane vode. Nakon homogenizacije broj spora je određen pomoću hemocitometra (Neubauer, Nemačka). Inokulacija je izvršena tako što je 1 ml suspenzije spora mikropipetom prenet u Petri kutiju sa vodenim agarom po čijoj površini je suspenzija kružnim pokretima

razlivena. Zatvorene Petri kutije postavljene su pod uglom od 30-40° i održavane su pri temperaturi od 25°C tokom 24 sata. Nakon perioda inkubacije, klijanje spora je provereno na stereomikroskopu. Proklijala pojedinačna spora je, zatim, sa komadićem podloge sterilnom ezom prenetu u centar Petri kutije sa KDA podlogom (**Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006**). Ovaj postupak je ponovljen četiri puta. Nakon sedmodnevnog gajenja kultura na temperaturi pri 25°C u termostatu, dobijene su monosporne kulture koja su korišćene za dalja istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji. Ove kulture su čuvane na tri vrste hranljive podloge (KDA, CLA i SNA) u staklenim ampulama u frižideru pri 4°C.

3.4. Provera patogenosti izolata i reizolacija gljiva

U cilju provere patogenosti ispitivanih monosporijalnih izolata na listu ječma u laboratorijskim uslovima, korišćena je modifikovana metoda koju su opisali **Imathiu et al. (2009)**.

Priprema inokuluma

U kulture izolata gajenih sedam dana na KDA podlozi pri 25°C, dodato je 10 ml sterilne destilovane vode uz dodatak Tween 20 (0,01%). Inokulum je dobijen skidanjem micelije sterilnim skalpelom. Dobijena suspenzija konidija proceđena je kroz četvoroslojnu sterilnu gazu. Koncentracija spora određena je hemocitometrom i podešena na 1×10^6 spora/ml.

Inokulacija i inkubacija

Površinski sterilisana zrna ječma sorte Nektar posejana su u saksije (27x15 cm) i gajena pri 20°C sa fotoperiodom od 12 h u fitotronu. Nakon 14 dana, od prvog lista klijanaca dobijeni su isečci dužine 4 cm koji su se koristili u daljem eksperimentu. U četiri ponavljanja postavljeno je po četiri lisna isečka u Petri kutije (prečnika 15 cm) obložene navlaženim filter papirom. U centar svakog lisnog isečka napravljena je povreda u koju je naneto 10 µl pripremljenog inokuluma. Listovi u negativnoj kontroli su tretirani istom količinom sterilne destilovane vode uz dodatak Tween 20 (0,01%), dok je za pozitivnu kontrolu korišćen izolat vrste *F. graminearum* iz kolekcije gljiva Instituta za kukuruz „Zemun Polje“. Uslovi inkubacije su bili temperatura 25°C u uslovima 12 h dan/12 h noć. Filter papir je po potrebi kvašen sa 2 ml sterilne destilovane vode, kako bi se održavala povišena vlažnost u Petri kutiji. Pojava i razvoj simptoma praćen je svakodnevno u trajanju od sedam dana, a dužina formiranih pega izmerena je sedmog dana nakon inokulacije. Iz simptomatičnih listova urađena je reizolacija na KDA podlogu u cilju potvrde Kohovih postulata.

3.5. Molekularna identifikacija i karakterizacija

3.5.1. Priprema izolata

Za potrebe izolacije DNK zasejano je 36 odabranih izolata vrsta *F. fujikuroi* kompleksa i to 20 izolata *F. verticillioides*, devet izolata *F. proliferatum* i sedam izolata *F. subglutinans*. Izolati su gajeni na KDA podlozi, 7 dana u termostatu pri temperaturi od 25°C, nakon čega je micelija sterilnim skalpelom sakupljena u tube.

3.5.2. Izolacija DNK

Izolacija dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) izvršena je pomoću DNeasy Plant Mini Kit (250), QIAGEN, Hilden, Germany po uputstvu proizvođača.

U tube zapremine 2 ml odmereno je 100 mg micelije. Zatim je u tube stavljena kuglica od volfram karbida veličine 3 mm koja omogućava lakšu homogenizaciju micelije. Nakon toga tube su zamrznute u tečnom azotu u trajanju od 30 sekundi. Homogenizacija micelije izvršena je pomoću TissueLyser II homogenizera, QIAGEN, Hilden, Germany. Tube su postavljene u adapter, a zatim su se homogenizovale, 1 minut na 30 Hz. Sledeći korak je obuhvatio ponovno zamrzavanje u tečnom azotu 30 sekundi, nakon čega je ponovljena homogenizacija ali sa tubama u obrnutim/suprotnim pozicijama. Dodato je 400 µl AP1 pufera i 4 µl enzima RNase u svaku tubu. Nakon toga usledila je inkubacija u vodenom kupatilu na 65 °C u trajanju od 10 minuta. Tokom perioda inkubacije tube su okretane 2-3 puta kako bi se RNK razgradila u prisustvu enzima. Zatim je dodato po 130 µl P3 pufera, nakon čega se lizat inkubirao na ledu 5 minuta. Dodavanjem ovog pufera ubrzano je taloženje proteina i polisaharida. Sledeći korak je obuhvatio centrifugiranje u trajanju od 5 minuta na 14 000 obrtaja. Lizat je prenet u QIAshredder Mini spin kolone od 2 ml sa filterom, nakon čega se sadržaj kolona centrifugirao 2 minuta na 14 000 obrtaja. Dobijeni filtrat je prenesen u nove tube od 2 ml, a zatim je dodato 650 µl AW1 pufera, u koji je prethodno sipan 70% etanol. Odmah nakon dodavanja pufera, sadržaj tube je promešan, a zatim prenet u nove DNeasy Mini spin kolone od 2 ml sa filterom. Sadržaj kolona je centrifugiran 1 minut na 8000 obrtaja, nakon čega je odbačena tečna faza koja je prošla kroz filter. Preostali sadržaj je prenet na filter, i zatim je ponovljen postupak. Sadržaj DNeasy Mini spin kolona prebačen je u nove tube od 2 ml, dodato je 500 µl AW2 pufera sa prethodno dodatim etanolom. Sadržaj je centrifugiran 1 minut na 8000 obrtaja. Dobijeni filtrat je odbačen i postupak je ponovljen, nakon čega se ponovo pristupilo centrifugiranju od 2 minuta, na 14 000 obrtaja. Ovim postupkom izolovana je DNK, a sve nečistoće su uklonjene. Sadržaj je prebačen u nove tube od 2 ml u koje je dodato 100 µl AE pufera. Nakon inkubacije u trajanju od 5 minuta na sobnoj temperaturi, sadržaj tube je centrifugiran 1 minut na 8000 obrtaja. Nakon završnog koraka izolovana DNK čuvana je na -20°C za dalje analize.

3.5.3. Određivanje koncentracije DNK

Nakon izolacije, koncentracija dobijene DNK proverena je merenjem adsorbance na 260 nm (A_{260}) i 280 nm (A_{280}) u spektrofotometru (Eppendorf Bio Photometer D30). Razblaženje uzorka (R) je podešeno tako da absorbanca od 1,0 na 260 nm odgovara 50 µg DNK/µl ($A_{260} = 1 = 50 \text{ µg/µl}$). Koncentracija DNK izračunata je pomoću sledeće formule:

konc.($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) = $A_{260} \times R \times 50/1000$. Čistoća DNK uzoraka se određuje preko odnosa A_{260}/A_{280} . Vrednost u intervalu 1,7-1,9 označavala je dobru čistoću analizirane DNK.

3.5.4. Molekularna detekcija vrsta *Fusarium fujikuroi* kompleksa primenom specifičnih prajmera

Molekularna detekcija 36 izolata vrsta *F. fujikuroi* kompleksa urađena je korišćenjem specifičnih prajmera čije sekvence su prikazane u Tabeli 1. Specifični prajmeri koji su korišćeni za identifikaciju vrste *F. verticillioides* su VER1/VER2, i zasnovani su na genu za kalmodulin (Mulè et al., 2004) i FV-F2/FV-FR zasnovani na *gaoB* genu (Faria et al., 2012). Za specifičnu detekciju *F. proliferatum* korišćen je PRO1/PRO2 par prajmera (Mulè et al., 2004), a za vrstu *F. subglutinans* SUB1/SUB2 par prajmera zasnovanih na genu za kalmodulin, kao i FS-F1/FS-R i FS-F2/FS-R (Faria et al., 2012) zasnovanih na *gaoB* genu.

Tabela 1. Specifični prajmeri korišćeni za dokazivanje vrsta *F. fujikuroi* kompleksa

Vrsta	Prajmer	Sekvenca (5'→3')	Veličina amplikona	Referenca
<i>F. verticillioides</i>	VER1 VER2	5'-CTTCCTGCGATGTTTCTCC-3' 5'-AATTGGCCATTGGTATTATATATCTA-3'	578bp	Mulè et al., 2004
<i>F. verticillioides</i>	FV-F2 FV-FR	5'-CACTGGTGGTAACGATGCG-3' 5'-CACCTGAGTGCCCTGGTG-3'	370bp	Faria et al., 2012
<i>F. proliferatum</i>	PRO1 PRO2	5'-CTTTCGGCCAAGTTTCTTC-3' 5'-TGTCAGTAACTCGACGTTGTTG-3'	585bp	Mulè et al., 2004
<i>F. subglutinans</i>	SUB1 SUB2	5'-CTGTCGCTAACCTCTTATCCA-3' 5'-CAGTATGGACGTTGGTATTATATCTAA-3'	631bp	Mulè et al., 2004
<i>F. subglutinans</i>	FS-F1 FS-R	5'-GTACAACCCGCTGCTAAGG-3' 5'-TACCCTGAGTACCCCTATCG-3'	649bp	Faria et al., 2012
<i>F. subglutinans</i>	FS-F2 FS-R	5'-TACTGGCGGCAACGACGCT-3' 5'-TACCCTGAGTACCCCTATCG-3'	370bp	Faria et al., 2012

PCR reakcija sa parovima prajmera VER1/VER2, PRO1/PRO2 i SUB1/SUB2

Reakciona smeša, finalne zapremine 50 μl , pripremljena je od finalne koncentracije:

- 1 x pufera (ThermoFisher Scientific, USA)
- 15 pmol prajmera (forward i reverse)
- 2,5 m dNTP (ThermoFisher Scientific, USA)
- 1,25U DreamTaq Green DNA Polimeraze (ThermoFisher Scientific, USA)
- 2 μl genomske DNK
- dd H₂O do zapremine 50 μl

Kao negativna kontrola je korišćena reakciona PCR smeša bez dodate DNK. Kao pozitivna kontrola korišćeni su referentni izolati i to za vrstu *F. verticillioides* korišćen je izolat RBG 1603 Q27, za vrstu *F. proliferatum* korišćen je izolat RBG 1613 Q15, a za vrstu *F. subglutinans* izolat RBG 3591 Q23. U PCR metodi, korišćenjem prajmera VER1/VER2 pozitivnom reakcijom je smatrana pojava amplikona oko 578bp, kod prajmera PRO1/PRO2 585bp, a kod prajmera SUB1/SUB2 631bp.

Uslovi PCR reakcije bili su sledeći:

- početna denaturacija na 95°C u trajanju od 5 minuta
- 35 ciklusa:
 - denaturacija na 94°C u trajanju od 50 sekundi
 - vezivanje prajmera za ciljne sekvence na 56°C u trajanju od 50 sekundi
 - elongacija na 72°C u trajanju od 1 minut
- finalna elongacija na 72°C u trajanju od 7 minuta.

PCR reakcija sa parovima prajmera FV-F2/FV-R, FS-F1/FS-R i FS-F2/FS-R

Reakciona smeša finalne zapremine 50 µl, pripremljena je od finalne koncentracije:

- 1 x pufera (ThermoFisher Scientific, USA)
- 25 pmol od svakog prajmera (forward i reverse)
- 2,5 m dNTP
- 1,25U DreamTaq Green DNA Polimeraze (ThermoFisher Scientific, USA)
- 2 µl genomske DNK
- dd H₂O do zapremine 50 µl

Kao negativna kontrola je korišćena reakciona PCR smeša bez dodate DNK, a kao pozitivna kontrola korišćeni su referentni izolati RBG 1603 Q27 za vrstu *F. verticillioides* i RBG 3591 Q23 za vrstu *F. subglutinans*. U PCR metodi, korišćenjem prajmera FV-F2/FV-R i FS-F2/FS-R pozitivnom reakcijom je smatrana pojava amplikona oko 370bp, a kod prajmera FS-F1/FS-R 649bp.

Uslovi PCR reakcije bili su sledeći:

- početna denaturacija na 94°C u trajanju od 5 minuta
- 25 ciklusa:
 - denaturacija na 94°C u trajanju od 1,5 minuta
 - vezivanje prajmera za ciljne sekvence na 64°C u trajanju od 1,5 minuta
 - elongacija na 72°C u trajanju od 2 minuta
- finalna elongacija na 72°C u trajanju od 10 minuta.

3.5.5. Molekularna karakterizacija vrsta *Fusarium fujikuroi* kompleksa na osnovu različitih genskih lokusa

Odabranih 14 izolata *F. fujikuroi* kompleksa je okarakterisano na osnovu tri genska lokusa: ITS regiona, delu gena za elongacioni faktor (TEF 1- α) i delu gena za RNK polimerazu (RPB2) koji se koriste za identifikaciju vrsta *F. fujikuroi* kompleksa (**O'Donnell et al., 2010, Moussa et al., 2017; Jiang et al., 2020; Crous et al., 2021**). Za umnožavanje ITS regiona korišćen je par prajmera ITS1 i ITS4 (**White et al., 1990**), gena za TEF 1- α primenom EF1/EF2 (**O'Donnell et al., 1998**) i gena za RPB2 primenom 7cf/11ar (**Liu et al., 1999; O'Donnell et al., 2010**), čije su sekvence prikazane u Tabeli 2.

Tabela 2. Spisak prajmera za dokazivanje vrsta *F. fujikuroi* kompleksa.

Genski lokus	Prajmer	Sekvenca (5' → 3')	Referenca
ITS	ITS1	5'-GAAGTAAAAGTCGTAACAAG-3'	White et al., 1990
	ITS4	5'-CCTCCGCTTATTGATATGC-3c'	
TEF 1- α	EF1	5'-ATGGGTAAGGA(A/G)GACAAGAC-3'	O'Donnell et al., 1998
	EF2	5'-GGA(G/A)GTACCAGT(G/C)ATCATGTT-3'	
RPB2	7cf	5'-ATGGGYAARCAAGCYATGGG-3'	Liu et al., 1999
	11ar	5'-GCRTGGATCTTRTCRTCSACC-3'	O'Donnell et al., 2010

PCR reakcija

Reakciona smeša za sva tri para prajmera pripremljena je na isti način. Finalna zapremina od 50 μ l sadrži:

- 1 x pufera (ThermoFisher Scientific, USA)
- 0,5 μ M od svakog prajmera (forward i reverse)
- 1 m dNTP
- 1,25U DreamTaq Green DNA Polimeraze (ThermoFisher Scientific, USA)
- 2 μ l DNK
- dd H₂O do zapremine 50 μ l

Kao negativna kontrola je korišćena reakciona PCR smeša bez dodate DNK.

Uslovi PCR reakcije za prajmere ITS1/ITS4 bili su sledeći:

- početna denaturacija na 94°C u trajanju od 5 minuta
- 30 ciklusa:
 - denaturacija na 94°C u trajanju od 30 sekundi
 - vezivanje prajmera za ciljne sekvence na 55°C u trajanju od od 30 sekundi
 - elongacija na 72°C u trajanju od 30 sekundi
- finalna elongacija na 72°C u trajanju od 10 minuta.

Uslovi PCR reakcije za prajmere 7cf/11ar bili su sledeći:

- početna denaturacija na 94°C u trajanju od 1,5 minuta
- 40 ciklusa:
 - denaturacija na 94°C u trajanju od 30 sekundi
 - vezivanje prajmera za ciljne sekvence na 55°C u trajanju od 1,5 minuta
 - elongacija na 68°C u trajanju od 2 minuta
- finalna elongacija na 68°C u trajanju od 5 minuta.

Uslovi PCR reakcije za prajmere EF1/EF2 bili su sledeći:

- početna denaturacija na 94°C u trajanju od 2 minuta
- 35 ciklusa:
 - denaturacija na 94°C u trajanju od 1 minut
 - vezivanje prajmera za ciljne sekvence na 53°C u trajanju 1 minut
 - elongacija na 72°C u trajanju od 2 minuta
- finalna elongacija na 68°C u trajanju od 10 minuta.

3.5.6. Vizuelizacija PCR produkata

Produkti PCR reakcije razdvojeni su elektroforezom u 1% agaroznom gelu u 1xTBE puferu (90 mM Tris, 90 mM H₃BO₃, 1 mM EDTA, Thermo Fisher Scientific, USA). Gel za elektroforezu je pripremljen tako što je u 35 ml 1xTBE pufera dodato 0,35 g agaroze. Nakon rastvaranja agaroze pristupilo se zagrevanju u mikrotalasnoj pećnici do temperature ključanja. Gel je zatim ohlađen na 60°C i razliven u kalup sa češljevima koji se postavljaju kako bi se formirali bunarčići. Nakon polimerizacije u trajanju od 20 minuta, češljevi se uklanjaju i kalup sa gelom se postavlja u kadicu za elektroforezu. Dodaje se 1xTBE pufer do određene visine, a zatim se u bunarčiće nanose uzorci. U prvi bunarčić nanesen je marker 100 bp DNK ili 1kb DNK (Thermo Fisher Scientific, USA), a u ostale bunarčiće naneseni su uzorci (10 µl PCR produkta i 1 µl boje 6x Loading dye - Thermo Fisher Scientific, USA). Elektroforeza je izvedena u trajanju od 40 minuta pri naponu od 100 V u aparatu za horizontalnu elektroforezu (BluePower 500, Serva, UK). Nakon završene elektroforeze, obavljena je vizuelizacija PCR produkata bojenjem gela etidijum bromidom (0,25 µg/ml) u trajanju od 20 minuta. Gelovi su posmatrani pod UV svetlom transluminatora i fotografisani. Veličina PCR produkta određena je na osnovu markera.

3.5.7. Sekvenciranje uzoraka

Amplikoni dobijeni umnožavanjem ITS, TEF 1- α i RPB2 regiona odabranih izolata poslani su na uslužno prečišćavanje i sekvenciranje u oba smera u DNA MacroGen Europe B.V. (<https://dna.macrogen-europe.com>, Holandija). Dobijene sekvence obrađene su u BioEdit programu, nakon čega su im određene konzensus sekvence. Ove sekvence su potom BLAST analizom (Basic Local Alignment Search Tool) upoređene sa sekvencama dostupnim u NCBI bazi podataka (National Center for Biotechnology and Information). Sve dobijene sekvence deponovane su u NCBI GenBank bazu podataka, nakon čega im je dodeljen pristupni broj.

3.5.8. Proučavanje filogenetskih odnosa

Za međusobno poređenje dobijenih sekvenci izolata, proučavanje evolutivnih odnosa i rekonstrukciju filogenetskog stabla korišćen je programski paket MEGA 11 (Tamura et al., 2021). Filogenetsko stablo je konstruisano pomoću Maximum Likelihood metode (model Kimura sa dva parametra) sa bootstrap analizom u 1000 ponavljanja. Za koren stabla korišćena je sekvenca *F. redolens* (pristupni broj HQ731067.1). Filogenetsko stablo je rekonstruisano za svaki region posebno. Za rekonstruisanje stabla korišćene su sve sekvence koje su dobijene sekvenciranjem sva tri regiona, kao i sekvence iz NCBI baze podataka sa kojima su dobijene sekvence uparene.

3.6. Proučavanje morfoloških karakteristika vrsta *Fusarium fujikuroi* kompleksa

Ispitivanje morfoloških karakteristika izolata rađeno je po metodi Leslie and Summerell (2006).

3.6.1. Ispitivanje makroskopskih karakteristika

Za proučavanje makroskopskih karakteristika izolati monospornih kultura zasejani su na KDA podlogu i gajeni su sedam dana u mraku u termostatu pri 25°C. Makroskopske karakteristike proučavane su kod svih dobijenih izolata, kao i kod referentnih izolata svake ispitivane vrste. Karakteristike koje su proučavane su:

- Izgled i boja kolonije
- Pigmentacija podloge
- Porast kolonije koji je meren svakodnevno u trajanju od sedam dana nakon presejavanja

3.6.2. Ispitivanje mikroskopskih karakteristika

Za proučavanje mikroskopskih karakteristika ispitivani izolati zasejani su na CLA i SNA podloge i gajeni u režimu 12 h dan/12 h noć pri 25°C. Nakon sedam dana inkubacije kod svih dobijenih izolata *F. fujikuroi* kompleksa i odgovarajućih referentnih izolata proučavane su sledeće karakteristike:

- Formiranje monofijalida i polifijalida
- Oblik i veličina makrokonidija
- Oblik i veličina mezokonidija
- Oblik i veličina mikrokonidija
- Prisustvo hlamidospora

Kod pojedinih izolata *F. fujikuroi* kompleksa proučavane su sledeće karakteristike:

- Dužina mikrokonidija u lancu
- Broj septi
- Oblik apikalne i bazalne ćelije makrokonidija

3.7. Ispitivanje virulentnosti izolata

Virulentnost izolata *F. fujikuroi* kompleksa ispitivana je na: a) listovima ječma, b) na klasu durum pšenice i c) na klasu pšenice, ječma i tritikalea. Virulentnost izolata na listovima ječma ispitivana je za odabranih 47 izolata, kao i tri referentna izolata (po jedan izolat od svake ispitivane vrste) u uslovima *in vitro* po metodi **Imathiu et al. (2009)**. Priprema inokuluma i inokulacija urađena je kao u delu provere patogenosti. Nakon sedam dana, na listovima je merena dužina pega.

Virulentnost izolata na klasu strnih žita ispitivana je veštačkom inokulacijom u uslovima *in vivo* prema modifikovanoj metodi **Mesterházy et al. (1999)**. Na klasu durum pšenice sorte Cosmostar ispitana je virulentnost svih 50 ispitivanih izolata, kao i po jedan referentni izolat svake ispitivane vrste, tokom dve proizvodne godine (2018. i 2019.). Na klasu obične pšenice (sorta Aurelia), ječma (sorta Nektar) i tritikalea (sorta Zenit) ispitana je virulentnost 15 odabranih izolata (šest izolata vrste *F. verticillioides*, pet izolata vrste *F. proliferatum* i četiri izolata vrste *F. subglutinans*) i po jedan referentni izolat svake ispitivane vrste. Ispitivanja su sprovedena tokom 2019. godine. Izolati su poreklom sa pšenice, ječma i tritikalea. Za potrebe ovog istraživanja izolati su gajeni su na KDA podlozi pri 25°C u mraku. Priprema inokuluma je rađena isto kao za proveru patogenosti. Ogladne

parcele Instituta za kukuruz u Zemun Polju postavljene su po slučajnom split-plot eksperimentalnom planu u 4 ponavljanja.

Biljke su inokulisane u ranim jutarnjim časovima kad je više od 50% biljaka bilo u fazi punog cvetanja. U svakom ponavljanju inokulisane su grupe od po 20 klasova. Količina pripremljenog inokuluma iznosila je 20 ml po ponavljanju, koncentracije 1×10^6 spora/ml. U negativnoj kontroli klasovi su inokulisani istom količinom sterilne destilovane vode, dok su klasovi u pozitivnoj kontroli inokulisani suspenzijom spora vrste *F. graminearum*. Inokulum je nanošen ručnom prskalicom po površini cvetalih klasova. Nakon inokulacije klasovi su pokriveni vlažnim PVC kesama kako bi se stvorili povoljni uslovi vlage za razvoj gljive. Kесе su uklonjene nakon 48 h.

Ocena infekcije na klasovima durum pšenice, pšenice, ječma i tritikalea je urađena nakon tri nedelje prema skali **Blandino et al. (2012)**. Svaki broj na skali odgovara procentualnom intervalu površine klasa sa vidljivim simptomima oboljenja i to:

- 1 = 0-5% zahvaćene površine klasa
- 2 = 5-15% zahvaćene površine klasa
- 3 = 15-30% zahvaćene površine klasa
- 4 = 30-50% zahvaćene površine klasa
- 5 = 50-75% zahvaćene površine klasa
- 6 = 75-90% zahvaćene površine klasa
- 7 = 90-100% zahvaćene površine klasa.

Indeks oboljenja izračunat je za inokulisane klasove pšenice, ječma i tritikalea prema jednačini **Jenkinson and Parry (1994)**.

$$\text{Indeks oboljenja} = \frac{(ax1)+(bx2)+(cx3)+(dx4)+(ex5)+(fx6)+(gx7)}{a+b+c+d+e+f+g} \times \frac{100}{6}$$

U ovoj jednačini a, b, c, d, e, f, i g predstavljaju ukupan broj biljaka koje su ocenjene redom ocenama od 1 do 7.

3.8. Ispitivanje toksikoloških karakteristika ispitivanih izolata

Merenje koncentracije sintetisanog fumonizina u izolatima *Fusarium* spp. ispitivana je korišćenjem specifičnih antiseruma (FUMO Celer, Tecna, Italija) primenom ELISA metode (Enzyme - Linked Immunosorbent Assay). ELISA je brza imunohemijska metoda koja uključuje enzime, imunološke molekule – antitela i antigene. Pincip ove metode zasniva se na postojanju bunarčića sa anti-toksin antitelom. Tokom inkubacije slobodan toksin iz uzorka i enzimski toksin iz konjugata su u kompeticiji za vezujuća mesta na anti-toksin antitelima u bunarčićima. Svi nevezani molekuli toksina i enzimskog konjugata se uklanjaju u procesu ispiranja. Količina enzimske aktivnosti se određuje dodavanjem određene količine hromogenog supstrata koji boji enzim u plavo, a dodavanje stop reagensa boji postojeći plavi rastvor u žuto. Absorbanca se meri na 450 nm, a jačina obojenosti je obrnuto proporcionalna koncentraciji toksina u uzorku. Optička gustina uzorka se poredi sa optičkom gustinom standarda na osnovu kojih se vrši preračunavanje koncentracije toksina u uzorku.

Analiza mikotoksina ELISA metodom obuhvatala je sledeće korake:

- priprema uzoraka

- ekstrakcija mikotoksina iz uzoraka
- kvantifikacija mikotoksina

3.8.1. Priprema uzoraka

Svih 50 izolata *Fusarium* spp. zasejano je na KDA podlogu prečnika 9 cm. Nakon sedmodnevnog gajenja pri 25°C u termostatu, prikupljena je formirana micelija. Biomasa gljive (micelija, konidije) je izmerena u staklenim vialama (20 ml) koje su prethodno izmerene na analitičkoj vagi, da bi se utvrdila precizna masa uzorka. U vialu je dodat rastvor metanola i vode (70:30, v/v) u razmeri 10:1 v/m. Vialu su mućkane na šejkeru u trajanju od 30 minuta pri velikoj brzini. Nakon toga, 1 ml ekstrakta je uzet za dalje centrifugiranje (12 000 obrtaja, 10 min). Nakon centrifugiranja, dobijeni uzorak je mikropipetom prebačen u tubu i koristio se za analizu (Abbas et al., 2004).

3.8.2. Ekstrakcija mikotoksina iz uzoraka

- Uzorak dobijen u prethodnom koraku je razblažen sa 950 µl sterilne destilovane vode.
- U svaki bunarčić za razblaživanje sipano je po 100 µl konjugata.
- Dodato je po 50 µl standarda/uzorka, a zatim je po 100 µl preneto u bunarčiće prekrivene antitelima.
- Nakon inkubacije od 10 minuta, bunarčići su isprani rastvorom za ispiranje i očeđeni uz opreznost da se ne osuše.
- Po 100 µl supstrata za razvijanje dodato je u svaki bunarčić.
- Nakon 10 minuta inkubacije na sobnoj temperaturi, dodato je 50 µl rastvora za zaustavljanje procesa.
- Paleta sa bunarčićima postavljena je u ELISA čitač i izvršeno je očitavanje koncentracije fumonizina.

3.8.3. Kvantifikacija mikotoksina

Očitavanje koncentracije fumonizina izvršena je pomoću ELISA čitača (BioTek EL x 800™) na talasnoj dužini od 450 nm. Kit za analizu fumonizina sadržao je pet standarda sledećih koncentracija: 0; 0,75; 4; 20 i 60 µg/g. Limit detekcije iznosio 0,75 µg/g. Dobijeni rezultati poređeni su sa standardnim vrednostima.

3.9. Statistička obrada podataka

Za ispitivanje statističke značajnosti razlike srednjih ocena patogenosti između gljiva, korišćena je dvofaktorska ANOVA po hijerarhijskom planu (Model 1).

$$\text{Model 1: } X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_{j(i)} + \varepsilon_{k(ij)},$$

gde je X_{ijk} ocena patogenosti kod i -te gljive, j -tog izolata i k -tog ponavljanja, μ je opšta srednja vrednost, α_i glavni efekti i -te gljive, $\beta_{j(i)}$ efekti j -tog izolata u okviru i -te gljive, dok je $\varepsilon_{k(ij)}$ član modela koji opisuje slučajnu grešku. Za ispitivanje statističke

značajnosti razlike srednjih ocena patogenosti pojedinih izolata (za svaku gljivu posebno), korišćena je jednofaktorska ANOVA po potpuno slučajnom planu, sa balansiranim dizajnom (Model 2).

$$\text{Model 2: } X_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij},$$

gde je X_{ij} ocena patogenosti i -tog izolata u j -tom ponavljanju, μ je opšta srednja vrednost, α_i je efekat i -tog izolata.

Dvofaktorska analiza varijanse po potpuno slučajnom planu, sa balansiranim dizajnom, korišćena je za ispitivanje statističke značajnosti razlika srednjih dnevnih porasta kolonija (Model 3).

$$\text{Model 3: } X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}.$$

U modelu 3, X_{ijk} predstavlja dnevni porast kolonije i -te gljive u j -tom danu i k -tom ponavljanju; μ je opšta srednja vrednost, α_i je efekat i -te gljive, β_j je efekat j -tog dana, $(\alpha\beta)_{ij}$ je efekat interakcije i -te gljive i j -tog dana. U oba modela (2 i 3), član ε predstavlja slučajnu grešku koja po pretpostavci ima normalnu raspodelu sa nultim prosekom. Za naknadna poređenja korišćen je Tukey-ev test. U svim testiranjima primenjen je 5%-tni nivo značajnosti.

Trofaktorska analiza varijanse po delimično hijerarhijskom planu, korišćena je za ispitivanje značajnosti glavnih efekata godine (α_i), efekata vrste gljive (β_j) i efekata izolata ugnježenih u vrstu gljive ($\gamma_{k(i)}$) na ocenu virulentnosti na klasu durum pšenice u poljskim uslovima (Model 4).

$$\text{Model 4: } X_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{k(j)} + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{k(j)i} + \varepsilon_{l(ijk)}.$$

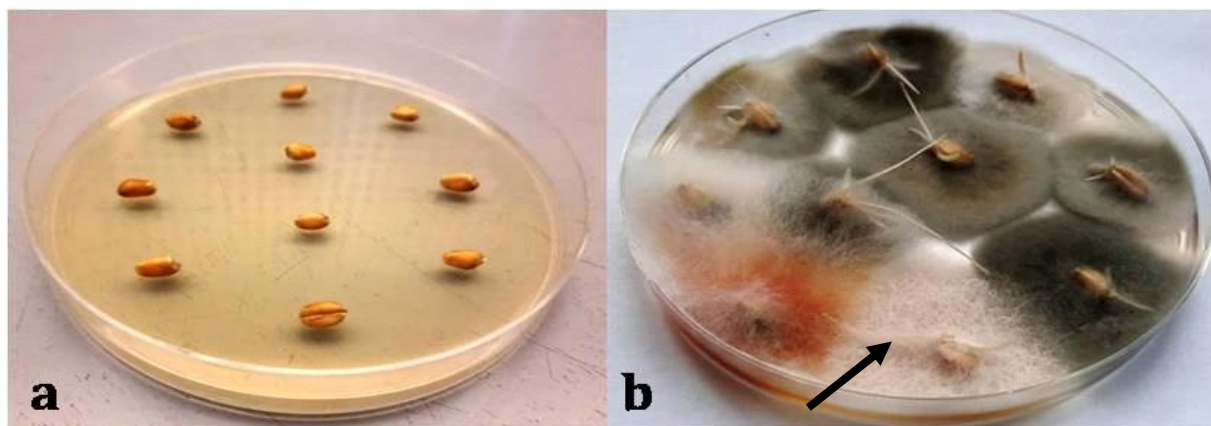
Preostali članovi modela opisuju interakcijske efekte, a $\varepsilon_{l(ijk)}$ je slučajna greška. Model 4 je korišćen i kod ispitivanja uticaja biljne vrste, vrste gljive i izolata na ocenu virulentnosti na klasu pšenice, ječma i tritikalea.

Za obradu i vizuelizaciju podataka, korišćeni su Rstudio 2020 i SPSS 25 (IBM Corp, 2017; RStudio Team, 2022).

4. Rezultati

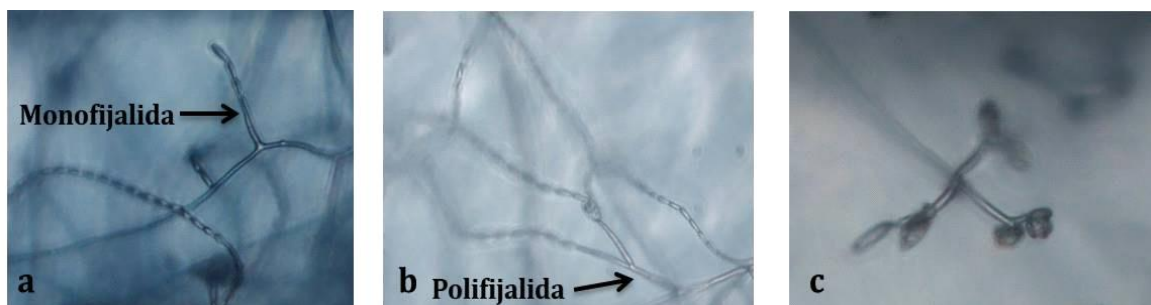
4.1. Dobijeni izolati vrsta *Fusarium fujikuroi* kompleksa

Ukupno 380 uzoraka zrna strnih žita (pšenica, ječam, tritikale i durum pšenica) sakupljeni su iz skladišta sedam dana nakon žetve sa 55 lokaliteta u Srbiji u periodu od 2014. do 2017. godine. Zrna su sterilisana, i zatim postavljena na KDA podlogu (Slika 1-a) gde su u termostatu inkubirana pri 25°C. Nakon sedam dana posmatrane su kolonije gljiva razvijene na i oko zrna. Na osnovu izgleda kolonije odabrani su izolati koji će se koristiti u narednim istraživanjima. Gljive koje su formirale belu miceliju, vunaste ili pamučaste strukture sa ružičastom, crvenkastom ili ljubičastom pigmentacijom podloge (Slika 1-b) izolovane su i presejane na CLA i SNA podloge radi dalje identifikacije. Na ovaj način dobijeno je 172 izolata.



Slika 1. Zrna pšenice na KDA podlozi pre gajenja u termostatu (a) i pojava kolonija gljiva nakon sedam dana gajenja u termostatu pri 25°C (b). Strelica označava izolat koji je odabran za dalju identifikaciju.

Na osnovu mikroskopskih karakteristika (lanci mikrokonidija, način grananja i formiranje monofijalida i polifijalida) ukupno 146 izolata je preliminarno identifikovano kao izolati vrsta *F. fujikuroi* kompleksa. Izolati koji su formirali duge lance mikrokonidija na monofijalidama (Slika 2-a) preliminarno su identifikovani kao vrsta *F. verticillioides* (68 izolata). Izolati koji su formirali kraće lance mikrokonidija na monofijalidama i polifijalidama (Slika 2-b) preliminarno su identifikovani kao *F. proliferatum* (46 izolata). Izolati koji nisu formirali lance mikrokonidija, već su mikrokonidije formirane iz lažnih glavica na monofijalidama i polifijalidama (Slika 2-c) preliminarno su identifikovani kao *F. subglutinans* (32 izolata). Od ukupno 68 izolata preliminarno identifikovanih kao *F. verticillioides*, 46 izolata je poreklom iz zrna pšenice, 10 izolata iz zrna durum pšenice, šest izolata iz zrna ječma, a šest izolata iz zrna tritikalea. Od ukupno 46 izolata preliminarno identifikovanih kao *F. proliferatum*, 27 izolata je poreklom iz zrna pšenice, devet izolata iz zrna durum pšenice, šest izolata iz zrna ječma, a četiri izolata iz zrna tritikalea. Od ukupno 32 izolata preliminarno identifikovanih kao *F. subglutinans*, ukupno 15 izolata je poreklom iz zrna pšenice, sedam izolata je poreklom iz zrna durum pšenice, šest izolata je poreklom iz zrna ječma, a četiri izolata su izolovana iz zrna tritikalea.



Slika 2. Vrste *F. fujikuroi* kompleksa *in situ* na CLA podlozi: a-lanci mikrokonidija na monofijalidi vrste *F. verticillioides*; b-lanci mikrokonidija na polifijalidi vrste *F. proliferatum*; c-simpodijalno grananje konidiofore sa lažnim glavicama kod vrste *F. subglutinans*.

Sve tri vrste gljive izolovane su sa zrna sve četiri biljne vrste. Na osnovu preliminarne morfološke identifikacije najčešće izolovana vrsta sa zrna pšenice bila je *F. verticillioides* (52% izolata), zatim *F. proliferatum* (30% izolata) i *F. subglutinans* (18% izolata). Izolati vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum* sa zrna durum pšenice bile su približno isto zastupljeni (36% i 35% izolata), dok je vrsta *F. subglutinans* bila manje zastupljena (18% izolata). Iz zrna ječma zastupljenost izolata sve tri vrste bila je ista. Sa zrna tritikalea, kao i sa zrna pšenice, *F. verticillioides* je bila najčešće izolovana vrsta (42% izolata), a zatim *F. proliferatum* (33% izolata) i *F. subglutinans* (25% izolata).

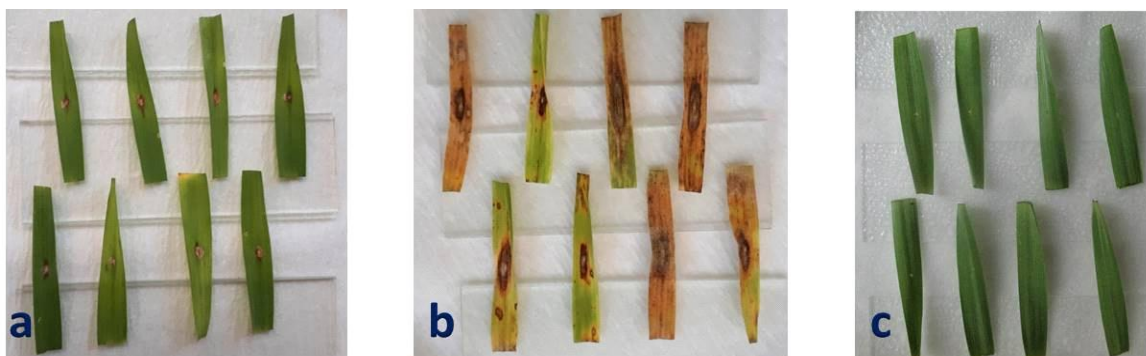
Za dalja istraživanja odabrano je 50 izolata preliminarno identifikovanih kao vrsta *F. fujikuroi* kompleksa i to 21 izolat vrste *F. verticillioides*, 15 izolata vrste *F. proliferatum* i 14 izolata vrste *F. subglutinans* koji su prečišćeni do monosporijalne kulture (Tabela 3). Izolati su odabrani na osnovu biljke domaćina i geografskog porekla. Iz zrna pšenice odabrano je 37 izolata, iz zrna ječma pet izolata, a iz zrna durum pšenice i tritikalea po četiri izolata. Izolati koji su odabrani za dalje istraživanje poreklom su iz 17 lokaliteta (Apatin, Batajnica, Dužine, Žabare, Zaječar, Zemun, Zemun Polje, Jaša Tomić, Kraljevo, Martinci, Mionica, Omoljica, Padinska Skela, Panonija, Sombor, Svilajnac, Vrbovsko).

Tabela 3. Izolati vrsta *F. fujikuroi* kompleksa koji su korišćeni u daljim istraživanjima.

Izolat	Vrsta	Biljna kultura	Lokalizet	Godina izolacije
4501	<i>F. subglutinans</i>	Pšenica	Kraljevo	2014.
4139	<i>F. subglutinans</i>	Pšenica	Zemun Polje	2015.
4165	<i>F. subglutinans</i>	Pšenica	Zemun Polje	2015.
4287	<i>F. subglutinans</i>	Pšenica	Zemun Polje	2016.
4433	<i>F. subglutinans</i>	Pšenica	Žabare	2017.
4434	<i>F. subglutinans</i>	Pšenica	Mionica	2017.
4435	<i>F. subglutinans</i>	Pšenica	Svilajnac	2017.
4440	<i>F. subglutinans</i>	Ječam	Batajnica	2017.
4441	<i>F. subglutinans</i>	Pšenica	Mionica	2017.
4442	<i>F. subglutinans</i>	Pšenica	Svilajnac	2017.
4446	<i>F. subglutinans</i>	Ječam	Sombor	2017.
4452	<i>F. subglutinans</i>	Tritikale	Zemun Polje	2017.
4453	<i>F. subglutinans</i>	Durum pšenica	Zemun Polje	2017.
4458	<i>F. subglutinans</i>	Pšenica	Zemun	2017.
4507	<i>F. proliferatum</i>	Tritikale	Zemun Polje	2014.
4522	<i>F. proliferatum</i>	Ječam	Zemun Polje	2014.
4171	<i>F. proliferatum</i>	Pšenica	Zemun Polje	2015.
4323	<i>F. proliferatum</i>	Durum pšenica	Zemun Polje	2016.
4432	<i>F. proliferatum</i>	Pšenica	Svilajnac	2017.
4437	<i>F. proliferatum</i>	Pšenica	Svilajnac	2017.
4439	<i>F. proliferatum</i>	Pšenica	Svilajnac	2017.
4443	<i>F. proliferatum</i>	Ječam	Padinska Skela	2017.
4444	<i>F. proliferatum</i>	Pšenica	Svilajnac	2017.
4445	<i>F. proliferatum</i>	Pšenica	Svilajnac	2017.
4454	<i>F. proliferatum</i>	Durum pšenica	Zemun Polje	2017.
4455	<i>F. proliferatum</i>	Pšenica	Zemun	2017.
4460	<i>F. proliferatum</i>	Pšenica	Omoljica	2017.
4469	<i>F. proliferatum</i>	Pšenica	Vrbovsko	2017.
4509	<i>F. proliferatum</i>	Tritikale	Zemun Polje	2014.
4500	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Kraljevo	2014.
4521	<i>F. verticillioides</i>	Ječam	Zemun Polje	2014.
4140	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Zemun Polje	2015.
4289	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Zemun Polje	2016.
4290	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Zemun Polje	2016.
4291	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Zemun Polje	2016.
4329	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Panonija	2016.
4436	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Svilajnac	2017.
4449	<i>F. verticillioides</i>	Durum pšenica	Zemun Polje	2017.
4450	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Zemun Polje	2017.
4451	<i>F. verticillioides</i>	Tritikale	Zemun Polje	2017.
4456	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Zemun	2017.
4459	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Zemun	2017.
4461	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Zaječar	2017.
4462	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Martinci	2017.
4463	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Dužine	2017.
4467	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Jaša Tomić	2017.
4468	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Vrbovsko	2017.
4470	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Vrbovsko	2017.
4471	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Apatin	2017.
4472	<i>F. verticillioides</i>	Pšenica	Apatin	2017.

4.2. Provera patogenosti i reizolacija patogena

Svih 50 izolata petog dana nakon inokulacije izazvali su pojavu simptoma u vidu nekroze oko mesta inokulacije. Ispitivani izolati su formirali nekrotičnu pegu različite dužine (Slika 3-a). Nakon sedmog dana kod nekih izolata (4165, 4440, 4453, 4455, 4469, 4521, 4461 i 4468) došlo je do obrazovanja beličaste, paučinaste micelije oko mesta inokulacije. Na listovima u pozitivnoj kontroli došlo je do potpune nekroze i propadanja listova (Slika 3-b), dok u negativnoj kontroli nije došlo do pojave simptoma bolesti (Slika 3-c). Iz inokuliranih listova obavljena je reizolacija patogena. Dobijeni rezultati su ispoljili iste morfološke karakteristike kao izvorni izolati, čime su potvrđeni Kohovi postulati.



Slika 3. Listovi ječma nakon inokulacije: a-listovi inokulisani suspenzijom spora vrsta *F. fujikuroi* kompleksa, b- listovi iz pozitivne kontrole inokulisani suspenzijom spora vrste *F. graminearum*, c-negativna kontrola.

4.3. Molekularna identifikacija i karakterizacija izolata vrsta *Fusarium fujikuroi* kompleksa

4.3.1. Identifikacija vrsta specifičnim prajmerima

Za molekularnu identifikaciju upotrebom specifičnih prajmera odabrano je 36 izolata vrsta *F. fujikuroi* kompleksa i to 17 izolata *F. verticillioides*, 11 izolata *F. proliferatum* i osam izolata *F. subglutinans* (Tabela 4).

Za identifikaciju svih izolata korišćeni su prajmeri VER1/VER2 i FV-F2/FV-R (specifični za vrstu *F. verticillioides*), PRO1/PRO2 par prajmera (specifičan za vrstu *F. proliferatum*), FS-F1/FS-R, FS-F2/FS-R i SUB1/SUB2 (specifični za vrstu *F. subglutinans*). Rezultati PCR umnožavanja ciljnih DNK fragmenata prikazani su u Tabeli 4.

Od 17 izolata prvobitno identifikovanih kao *F. verticillioides* na osnovu morfoloških karakteristika, kod 15 izolata (4140, 4289, 4291, 4329, 4436, 4441, 4450, 4451, 4456, 4461, 4462, 4467, 4472, 4500 i 4521) dobijeni su amplikoni očekivanih veličina sa prajmerima VER1/VER2 (578 bp) (Slika 4) i FV-F2/FV-R (400 bp) (Slika 5). Kod izolata 4460 nije došlo do amplifikacije ni sa jednim parom prajmera, dok su kod izolata 4469 dobijeni amplikoni očekivane veličine sa prajmerima PRO1/PRO2 specifičnih za vrstu *F. proliferatum*. Od 11 izolata prvobitno identifikovanih kao *F. proliferatum*, kod 6 izolata (4437, 4439, 4443, 4444, 4507 i 4522) dobijeni su amplikoni očekivanih veličina sa prajmerima PRO1/PRO2 (585 bp) (Slika 6), a kod 5 izolata (4323, 4445, 4454, 4455 i 4509) nije došlo do amplifikacije fragmenata očekivane veličine ni sa jednim parom

prajmera. Kod svih izolata identifikovanih kao *F. subglutinans* (4165, 4287, 4433, 4434, 4452, 4453, 4458 i 4501), dobijeni su amplikoni očekivane veličine sa prajmerima FS-F1/FS-R (649 bp) (Slika 7), FS-F2/FS-R (370 bp) i SUB1/SUB2 (631bp), specifičnim za ovu vrstu. Kod svih referentnih izolata dobijeni su amplikoni očekivanih veličina, dok u negativnoj kontroli nije došlo do amplifikacije.

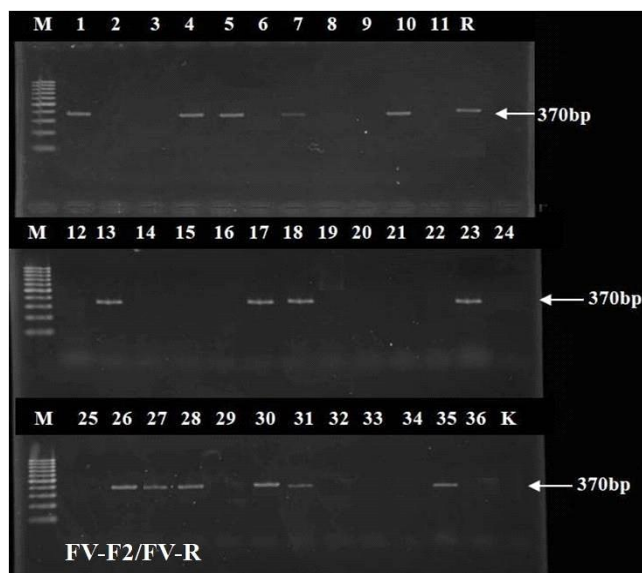
Tabela 4. PCR amplikoni dobijeni korišćenjem specifičnih prajmera za vrste *F. fujikuroi* kompleksa.

Izolat	Specifični prajmeri						Identifikovana vrsta
	(Mulè et al., 2004)			(Faria et al., 2012)			
	PRO1/PRO2 (<i>F. prolif.</i>)	VER1/VER2 (<i>F. vert.</i>)	SUB1/SUB2 (<i>F. subgl.</i>)	FV-F2/FV-R (<i>F. vert.</i>)	FS-F1/FS-R (<i>F. subgl.</i>)	FS-F2/FS-R (<i>F. subgl.</i>)	
4140	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4165	-	-	+	-	+	+	<i>F. subglutinans</i>
4287	-	-	+	-	+	+	<i>F. subglutinans</i>
4289	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4291	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4323	-	-	-	-	-	-	-
4329	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4433	-	-	+	-	+	+	<i>F. subglutinans</i>
4434	-	-	+	-	+	+	<i>F. subglutinans</i>
4436	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4437	+	-	-	-	-	-	<i>F. proliferatum</i>
4439	+	-	-	-	-	-	<i>F. proliferatum</i>
4441	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4443	+	-	-	-	-	-	<i>F. proliferatum</i>
4444	+	-	-	-	-	-	<i>F. proliferatum</i>
4445	-	-	-	-	-	-	-
4450	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4451	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4452	-	-	+	-	+	+	<i>F. subglutinans</i>
4453	-	-	+	-	+	+	<i>F. subglutinans</i>
4454	-	-	-	-	-	-	-
4455	-	-	-	-	-	-	-
4456	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4458	-	-	+	-	+	+	<i>F. subglutinans</i>
4460	-	-	-	-	-	-	-
4461	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4462	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4467	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4469	+	-	-	-	-	-	<i>F. proliferatum</i>
4472	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4500	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4501	-	-	+	-	+	+	<i>F. subglutinans</i>
4507	+	-	-	-	-	-	<i>F. proliferatum</i>
4509	-	-	-	-	-	-	-
4521	-	+	-	+	-	-	<i>F. verticillioides</i>
4522	+	-	-	-	-	-	<i>F. proliferatum</i>

Legenda: + Pojava amplikona očekivane veličine; - Nije došlo do amplifikacije;



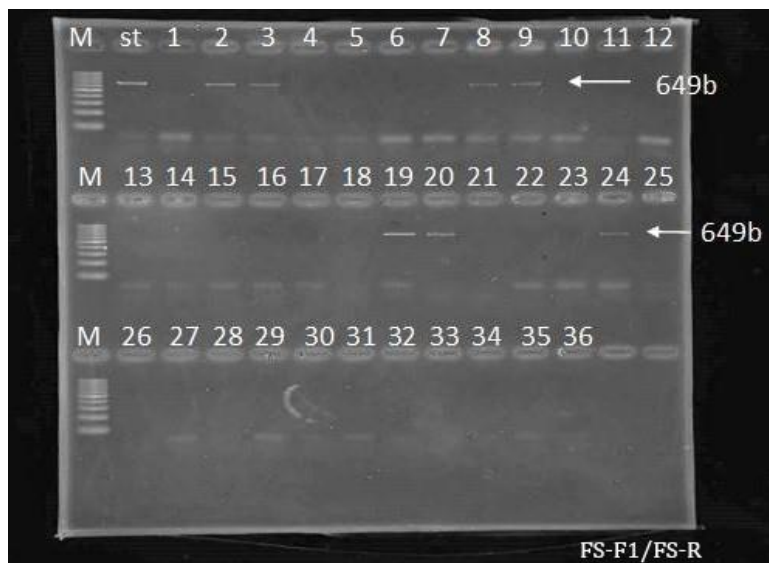
Slika 4. Amplikoni dužine 578 bp dobijeni PCR umnožavanjem korišćenjem VER1/VER2 para prajmera specifičnih za vrstu *F. verticillioides*; M-DNK marker 100 bp (Thermo Fisher Scientific, USA); R-referentni izolat RBG 1603 Q27; K-negativna kontrola; 1-izolat 4140, 4-izolat 4289, 5-izolat 4291, 7-izolat 4329, 10-izolat 4436, 13-izolat 4441, 17-izolat 4450, 18-izolat 4451, 23-izolat 4456, 26-izolat 4461, 27-izolat 4462, 28-izolat 4467, 30-izolat 4472, 31-izolat 4500, 35-izolat 4521.



Slika 5. Amplikoni dužine 370 bp dobijeni PCR umnožavanjem korišćenjem FV-F2/FV-R para prajmera specifičnih za vrstu *F. verticillioides*; M- DNK marker 100 bp (Thermo Fisher Scientific, USA); R-referentni izolat RBG 1603 Q27; K-negativna kontrola; 1-izolat 4140, 4-izolat 4289, 5-izolat 4291, 7-izolat 4329, 10-izolat 4436, 13-izolat 4441, 17-izolat 4450, 18-izolat 4451, 23-izolat 4456, 26-izolat 4461, 27-izolat 4462, 28-izolat 4467, 30-izolat 4472, 31-izolat 4500, 35-izolat 4521.



Slika 6. Amplikoni dužine 585 bp dobijeni PCR umnožavanjem korišćenjem PRO1/PRO2 para prajmera specifičnih za vrstu *F. proliferatum*; M-DNK marker 100 bp (Thermo Fisher Scientific, USA); R-referentni izolat RBG 1613 Q15; K-negativna kontrola; 11-izolat 4437, 12-izolat 4439, 14-izolat 4443, 15-izolat 4444, 29-izolat 4469, 33-izolat 4507, 36-izolat 4522.

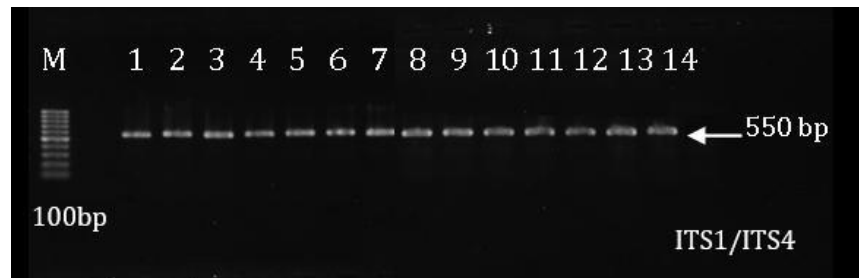


Slika 7. Amplikoni dužine 649 bp dobijeni PCR umnožavanjem korišćenjem FS-F1/FS-R para prajmera specifičnih za vrstu *F. subglutinans*; M-DNK marker 100 bp (Thermo Fisher Scientific, USA); R-referentni izolat RBG 3591 Q13; K-negativna kontrola; 2-izolat 4165, 3-izolat 4287, 8-izolat 4433, 9-izolat 4434, 19-izolat 4452, 20-izolat 4453, 24-izolat 4458, 32-izolat 4501.

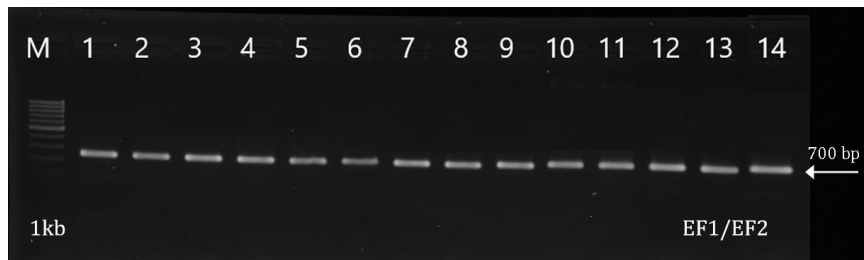
4.3.2. Identifikacija na osnovu specifičnih genskih regiona

Umnožavanje specifičnih genskih regiona urađeno je kod 14 odabranih izolata i to tri izolata vrste *F. verticillioides* (4451, 4500 i 4521) i po dva izolata vrsta *F. proliferatum* (4323 i 4445) i *F. subglutinans* (4165 i 4441) poreklom sa različitih biljnih domaćina čija preliminarna identifikacija na osnovu morfoloških karakteristika je potvrđena primenom specifičnih prajmera. Takođe, uključeno je i šest izolata čija identifikacija nije bila moguća specifičnim prajmerima (izolati 4323, 4445, 4454, 4455, 4460 i 4509), zatim izolat 4469 koji je na osnovu morfoloških karakteristika identifikovan kao *F. verticillioides*, dok je korišćenjem specifičnih prajmera identifikovan kao *F. proliferatum*.

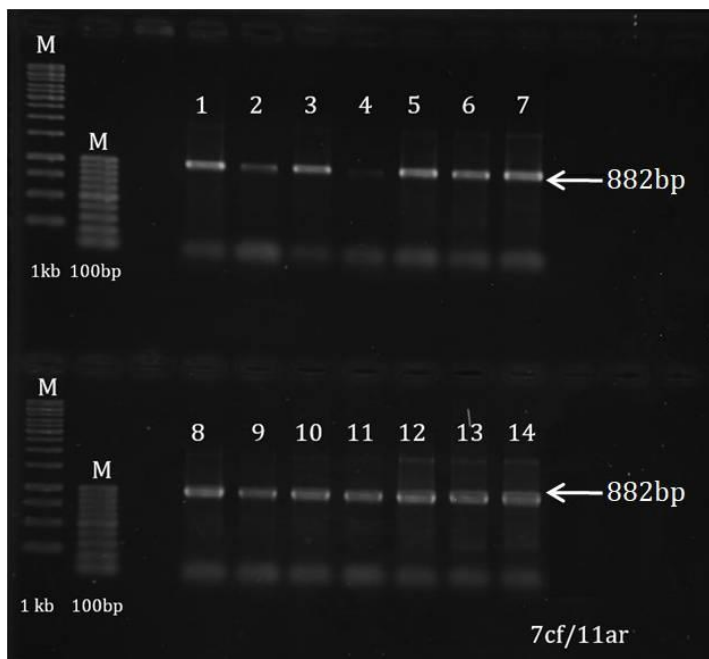
PCR reakcija je obavljena korišćenjem parova prajmera za umnožavanje tri genska lokusa (ITS, TEF 1- α i RPB2). Kod svih ispitivanih izolata korišćenjem prajmera ITS1/ITS4 dobijeni su amplikoni veličine 550 bp (Slika 8), EF1/EF2 veličine 700 bp (Slika 9) i 7cf/11ar veličine 882 bp (Slika 10). Kod negativne kontrole nije došlo do amplifikacije.



Slika 8. Amplikoni dužine 550 bp dobijeni PCR umnožavanjem korišćenjem prajmera ITS1/ITS4; M-DNK marker 100 bp (Thermo Fisher Scientific, USA); 1-izolat 4165, 3-izolat 4441 (vrsta *F. subglutinans*); 2-izolat 4323, 4-izolat 4443, 5-izolat 4444, 6-izolat 4445, 8-izolat 4454, 9-izolat 4455, 10-izolat 4460, 11-izolat 4469, 13-izolat 4509 (vrsta *F. proliferatum*); 7-izolat 4451, 12-izolat 4500, 14-izolat 4521 (vrsta *F. verticillioides*).



Slika 9. Amplikoni dužine 700 bp dobijeni PCR umnožavanjem korišćenjem prajmera EF1/EF2; M- DNK marker 1kb (Thermo Fisher Scientific, USA); 1-izolat 4165, 3-izolat 4441 (vrsta *F. subglutinans*); 2-izolat 4323, 4-izolat 4443, 5-izolat 4444, 6-izolat 4445, 8-izolat 4454, 9-izolat 4455, 10-izolat 4460, 11-izolat 4469, 13-izolat 4509 (vrsta *F. proliferatum*); 7-izolat 4451, 12-izolat 4500, 14-izolat 4521 (vrsta *F. verticillioides*).



Slika 10. Amplikoni dužine 882 bp dobijeni PCR umnožavanjem korišćenjem prajmera 7cf/11ar; M-DNK marker 1kb (levo) i 100 bp (desno) (Thermo Fisher Scientific, USA); 1-izolat 4165, 3-izolat 4441 (vrsta *F. subglutinans*); 2-izolat 4323, 4-izolat 4443, 5-izolat 4444, 6-izolat 4445, 8-izolat 4454, 9-izolat 4455, 10-izolat 4460, 11-izolat 4469, 13-izolat 4509 (vrsta *F. proliferatum*); 7-izolat 4451, 12-izolat 4500, 14-izolat 4521 (vrsta *F. verticillioides*).

4.3.3. Analiza sekvenci *Fusarium fujikuroi* kompleksa

Nakon sekvenciranja dobijene sekvence su spojene u BioEdit programu, a konsenzus sekvence za tri odabrana genska lokusa (ITS, TEF 1- α i RPB2) su deponovane u NCBI bazu podataka, nakon čega im je dodeljen pristupni broj (Tabela 5). Dobijene su sekvence tri izolata vrste *F. verticillioides* (izolati 4451, 4500 i 4521), devet izolata vrste *F. proliferatum* (izolati 4323, 4443, 4444, 4445, 4454, 4455, 4460, 4469 i 4509) i dva izolata vrste *F. subglutinans* (izolati 4165 i 4441).

Međusobnim poređenjem dobijenih sekvenci vrsta *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans* nije uočena varijabilnost u ITS regionu između izolata iste vrste.

Međusobnim poređenjem dobijenih sekvenci TEF 1- α regiona vrste *F. verticillioides* uočena je razlika u jednom nukleotidu između izolata 4500 sa izolatima 4451 i 4521 koji su bili identični. Najveća varijabilnost u TEF 1- α regionu utvrđena je kod izolata *F. proliferatum*. Međusobnim poređenjem izolata 4454, 4455 i 4460 nije uočena varijabilnost, kao ni između izolata 4323 i 4469, zatim 4444 i 4445, dok su se izolati 4443 i 4509 razlikovali u jednom nukleotidu. Međusobnim poređenjem dobijenih sekvenci vrste *F. subglutinans* nije uočena varijabilnost u TEF 1- α regionu između izolata iste vrste.

Međusobnim poređenjem dobijenih sekvenci vrsta *F. verticillioides* i *F. subglutinans* nije uočena varijabilnost u RPB2 regionu između izolata iste vrste. Izolati vrste *F. proliferatum* su pokazali varijabilnost između izolata u okviru iste vrste. Na osnovu RPB2 regiona izdvajaju se dve grupe izolata *F. proliferatum*. Jednu grupu čine izolati 4323 i 4445

koji su međusobno identični, a drugu grupu čine svi ostali izolati ove vrste (4443, 4444, 4454, 4455, 4460, 4469 i 4509) koji su takođe međusobno identični. Nukleotidna sličnost izolata 4323 sa drugom grupom izolata bila je 76%, dok je kod izolata 4445 sličnost bila 80%.

Na osnovu ITS regiona međusobnim poređenjem dobijenih sekvenci utvrđeno je da se *F. subglutinans* razlikovala od *F. proliferatum* u 35 nukleotida, na osnovu TEF 1- α regiona razlikovala se u 55 nukleotida, dok je na osnovu RPB2 regiona uočena najmanja varijabilnost (25 nukleotida). Na osnovu ITS regiona nije uočena varijabilnost između vrsta *F. subglutinans* i *F. verticillioides*, dok je na osnovu TEF1- α regiona uočena sličnost od 91%, a na osnovu RPB2 regiona sličnost je bila od 82% do 96%. Na osnovu ITS regiona između *F. proliferatum* i *F. verticillioides* uočena je sličnost od 93,2% do 94,8%. Na osnovu TEF 1- α regiona nukleotidna sličnost je bila od 88,8% do 91,4%, dok je na osnovu RPB2 regiona bila od 78,1% do 96,6%.

Blast analizom utvrđeno je da su sekvence ITS regiona vrste *F. verticillioides* bile identične sa sekvencom MG274298 (Švajcarska), dok je sa sekvencama MH861171 i MH856066 iz Holandije imala 99% sličnosti. Sekvence ITS regiona vrste *F. proliferatum* bile su identične sa dve sekvence deponovane u GenBank bazi podataka poreklom iz Švajcarske (MG274294 i MG274295), sa sedam sekvenci poreklom iz Holandije (MH863645, MH855271, MH855104, MH855401, MH863644, MH854910 i MH863642), jednom sekvencom poreklom iz Turske (MK817049) i jednom sekvencom poreklom Kine (MZ724825). Sekvence ITS regiona vrste *F. subglutinans* bile identične sa sekvencom MG274315 istog regiona poreklom iz Švajcarske deponovanoj u GenBank bazi podataka.

Sekvence TEF 1- α regiona vrste *F. verticillioides* bile su identične sa dve sekvence (MN861799 i MN861797) poreklom iz Španije, sa dve sekvence (MT010990 i MZ921825) iz Holandije i sekvencom MG550939 iz Argentine, dok je sličnost sa sekvencom MH582325 iz Španije bila 99,66%. Sekvence TEF 1- α regiona vrste *F. proliferatum* bile su identične sa sekvencama iz Španije (MN861797, MN861788, MN861773, MN861748, MW091268, MT305201, MT305211, MN861765) i MT305209), dve sekvence iz Amerike (JF740718 i KM462999), sekvencom MF472010 iz Italije, sekvencom MN881041 iz Irana, sekvencom MT754657 iz Izraela, sekvencom MZ359410 iz Nemačke, sekvencom MT551186 iz Kine, dok su 99% bile slične sa sekvencama iz Amerike (MH582344) i Španije (MW091265). Sekvence vrste *F. subglutinans* bile su identične sa sekvencama KM462951 i KM462979 poreklom iz Amerike, kao i sa sekvencom KP336409 iz Brazila. Sa sekvencom MH582310 iz Amerike bile su slične 99,7%.

Sekvence RPB2 regiona vrste *F. verticillioides* bile su identične sa sekvencom MH582141 (Amerika), sekvencom MW915565 (Italija), sekvencom MN193901 (Gvajana) i sa sekvencama MN892280 i MN892281 poreklom iz Kine. Sve sekvence vrste *F. proliferatum* bile su identične sa pet sekvenci iz Amerike (MH582151, MH582193, EF470202, KU171707 i MK077107), sa četiri sekvence iz Španije (MW091314, MT305144, MT305149 i MW091310), kao i sa sekvencama iz Izraela (MT754694) i Meksika (MH935990). Sekvence vrste *F. subglutinans* bile su 99% slične sa sekvencama iz Amerike (MN193898 i JX171599).

Analizom sekvenci tri genska lokusa potvrđena je identifikacija izolata *F. subglutinans*. Izolati koji su preliminarno identifikovani na osnovu morfoloških karakteristika kao vrsta *F. proliferatum* i kod kojih je specifičnim prajmerima amplifikovan ili ne fragment očekivanih veličina su na osnovu analize tri genska lokusa identifikovani

kao izolati *F. proliferatum*. Međutim, kod dva izolata preliminarno identifikovanih na osnovu morfoloških karakteristika kao izolati vrste *F. verticillioides*, a sa specifičnim prajmerima su amplifikovali fragment očekivane veličine (izolat 4469) ili ne (izolat 4460), na osnovu molekularnih karakteristika je pokazano da oni pripadaju vrsti *F. proliferatum*. Kod ostalih sedam izolata *F. verticillioides* je potvrđena identifikacija.

Tabela 5. Izolati vrsta *F. subglutinans*, *F. verticillioides* i *F. proliferatum* sa GenBank pristupnim brojevima.

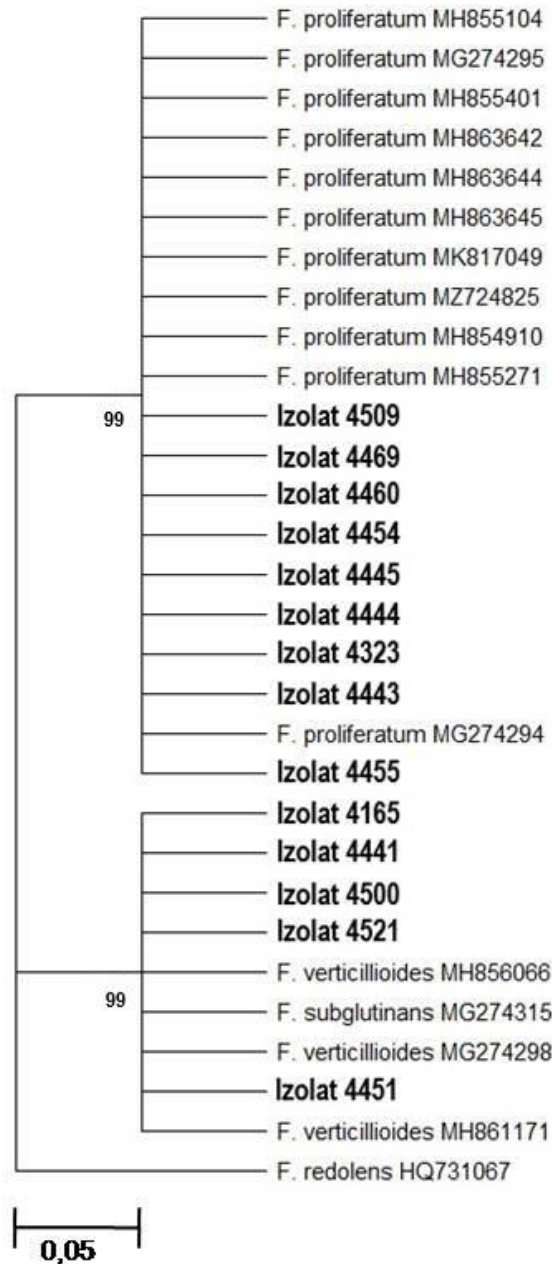
Vrsta	Izolat	Biljka domaćin	Pristupni broj iz GenBank baze podataka		
			TEF 1- α	ITS	RPB2
<i>F. subglutinans</i>	4165	Pšenica	OM228687	OM185557	OM439656
	4441	Pšenica	OM228689	OM185558	OM439646
<i>F. verticillioides</i>	4451	Tritikale	MZ666958	MZ664391	MZ666957
	4500	Pšenica	OM228698	OM185571	OM439653
	4521	Ječam	OM228697	OM185572	OM439655
<i>F. proliferatum</i>	4323	Durum pšenica	OM228688	OM185556	OM439657
	4443	Ječam	OM228690	OM185559	OM439647
	4444	Pšenica	OM228691	OM185555	OM439648
	4445	Pšenica	OM228692	OM185560	OM461361
	4454	Durum pšenica	OM228693	OM185562	OM439650
	4455	Pšenica	OM228694	OM185561	OM439649
	4460	Pšenica	OM228695	OM185569	OM439651
	4469	Pšenica	OM228696	OM185568	OM439652
4509	Tritikale	OM228699	OM185570	OM439654	

4.3.4. Filogenetske analize

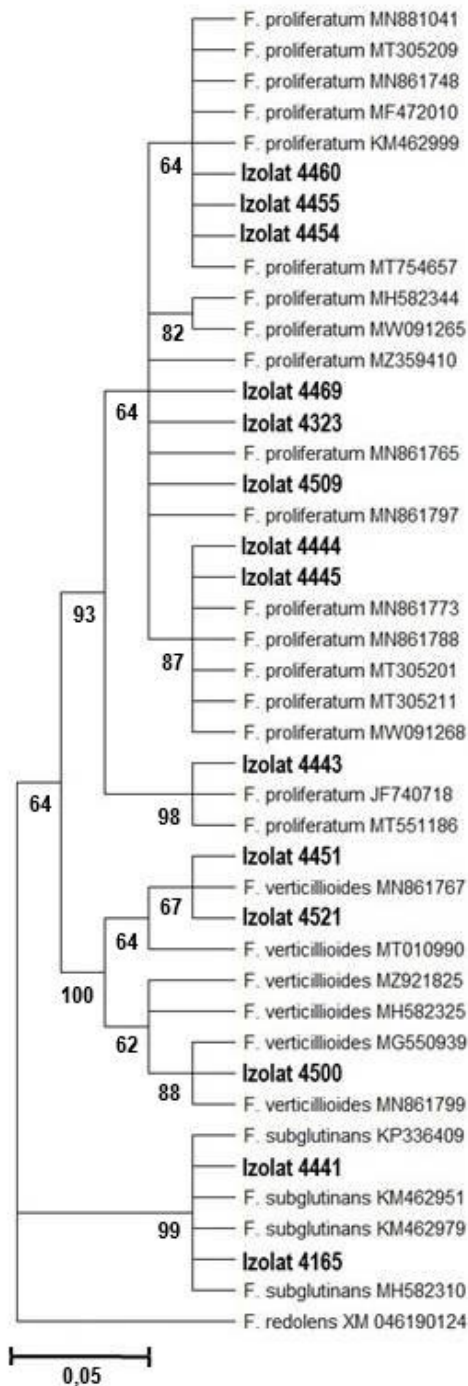
Za rekonstruisanje filogenetskog stabla korišćene su cele nukleotidne sekvence dobijene sekvenciranjem tri genska lokusa: ITS, TEF 1- α i RPB2. Filogenetsko stablo je rekonstruisano za svaki region posebno, tako što su korišćene sve sekvence koje su dobijene sekvenciranjem datog regiona, kao i sekvence iz NCBI baze podataka sa kojima su dobijene sekvence pokazale 99-100% sličnosti. Za rekonstruisanje stabla za ITS region korišćeno je 15 sekvenci iz NCBI baze podataka, za TEF 1- α region 28 sekvenci, a za RPB2 region korišćeno je 18 sekvenci. Sva tri filogenetska stabla su rekonstruisana metodom Maximum Likelihood sa bootstrap analizom u 1000 ponavljanja. U MEGA 11 softveru određen je Kimura model sa dva parametra kao najpogodniji za analizu sekvenci. Za koren stabla korišćena je sekvenca *F. redolens* (pristupni broj HQ731067.1).

Na osnovu ITS regiona vrsta *F. proliferatum* izdvojila se u posebnu granu sa svojim referentnim izolatima iz NCBI baze podataka. Vrste *F. verticillioides* i *F. subglutinans* sa referentnim izolatima iz NCBI baze podataka zajedno su se grupisale u drugu granu (Slika 11). Na osnovu TEF 1- α regiona svaka vrsta *F. fujikuroi* kompleksa formirala je stabilnu granu sa visokim bootstrap brojem (Slika 12). Izolati ove tri ispitivane vrste grupisali su se sa izolatima iste vrste iz NCBI baze podataka, čime je potvrđena njihova identifikacija. Na osnovu RPB2 regiona izolati vrste *F. proliferatum* podelili su se u dve grane. Izolati 4323 i 4445 zajedno sa referentnim izolatom MW091310 iz NCBI banke gena grupisali su se u jednu granu, dok su se svi ostali izolati ove vrste sa izolatima iz NCBI banke gena grupisali u drugu granu. Vrste *F. verticillioides* i *F. subglutinans* grupisale su se sa izolatima iste vrste iz NCBI baze podataka u posebne grane. Filogenetsko stablo rekonstruisano na osnovu

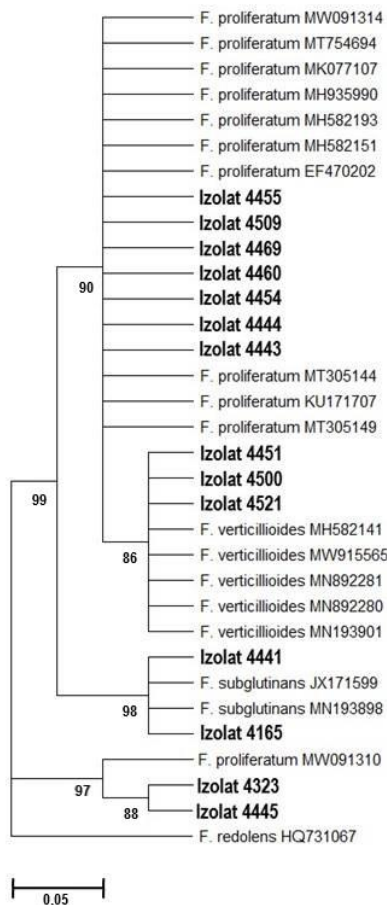
RPB2 regiona je pokazalo da se na osnovu ovog regiona ne mogu jasno razdvojiti vrste *F. fujikuroi* kompleksa (Slika 13).



Slika 11. Filogenetsko stablo rekonstruisano u MEGA 11 softveru na osnovu dobijenih sekvenci *F. fujikuroi* kompleksa i sekvenci iz NCBI baze podataka ITS regiona primenom Maximum Likelihood metode sa bootstrap analizom u 1000 ponavljanja, pomoću Kimura modela sa dva parametra. Za koren stabla korišćena je sekvenca *F. redolens* (pristupni broj HQ731067.1). Prikazane su bootstrap vrednosti veće od 60.



Slika 12. Filogenetsko stablo rekonstruisano u MEGA 11 softveru na osnovu dobijenih sekvenci *F. fujikuroi* kompleksa i sekvenci iz NCBI baze podataka TEF 1- α regiona primenom Maximum Likelihood metode sa bootstrap analizom u 1000 ponavljanja, pomoću Kimura modela sa dva parametra. Za koren stabla korišćena je sekvenca *F. redolens* (pristupni broj HQ731067.1). Prikazane su bootstrap vrednosti veće od 60.



Slika 13. Filogenetsko stablo rekonstruisano u MEGA 11 softveru na osnovu dobijenih sekvenci *F. fujikuroi* kompleksa i sekvenci iz NCBI baze podataka RPB2 regiona primenom Maximum Likelihood metode sa bootstrap analizom u 1000 ponavljanja, pomoću Kimura modela sa dva parametra. Za koren stabla korišćena je sekvenca *F. redolens* (pristupni broj HQ731067.1). Prikazane su bootstrap vrednosti veće od 60.

4.4. Morfološka karakterizacija izolata vrsta *Fusarium fujikuroi* kompleksa

Karakterizacija izolata vrsta *F. fujikuroi* kompleksa na osnovu morfologije obuhvatila je ispitivanje makroskopskih i mikroskopskih karakteristika. Makroskopske karakteristike koje su proučavane su izgled i boja kolonije, pigmentacija podloge i dnevni porast kolonije. Mikroskopske karakteristike koje su proučavane su oblik i veličina makrokonidija, mikrokonidija i mezokonidija, formiranje monofijalida i polifijalida, dužina

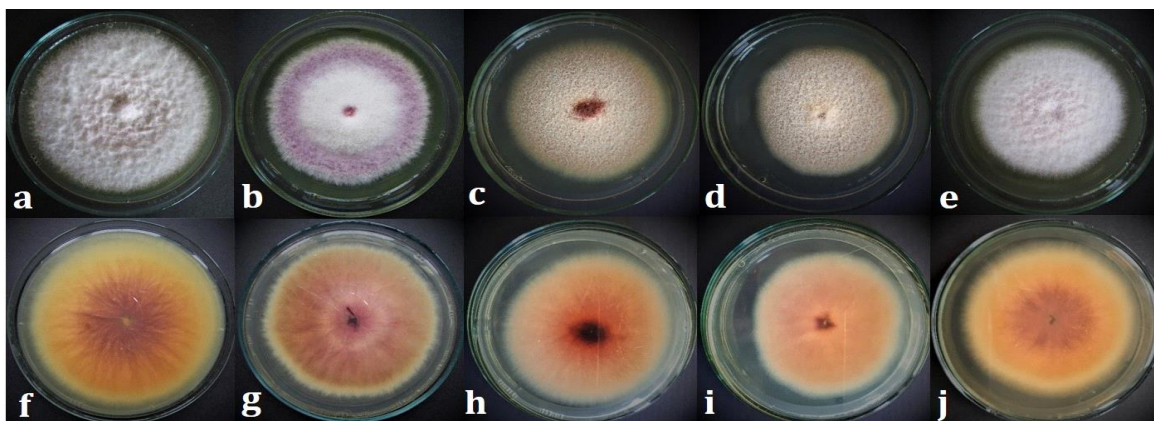
mikrokonidija u lancu, broj septi, oblik apikalne i bazalne ćelije makrokonidija i prisustvo hlamidospora.

4.4.1. Makroskopske karakteristike izolata

Opis kolonije

Izolati vrste *F. verticillioides* ispoljili su varijabilnost u izgledu kolonije (Slika 14). Izolati 4140, 4456, 4467, 4472 i 4500 obrazovali su snežno belu, gustu miceliju, ravnomerno raspoređenu, vunaste strukture, ravnog oboda. Izolati 4291, 4463 i 4521 obrazovali su gustu vunastu miceliju, snežno bele boje u sredini, sa svetloljubičastim ravnim obodom. Izolati 4290, 4329, 4451 i 4462 obrazovali su snežno belu miceliju vunaste strukture sa ružičastom nijansom, ravnomerno raspoređenu, ravnog oboda. Izolati 4436, 4449, 4459, 4461 i 4468 obrazovali su beličastu miceliju vunaste strukture rastresite ka periferiji, ravnog do talasastog oboda. Izolati 4140, 4450, 4463 i 4470 obrazovali su beličastu miceliju vunaste strukture sa nijansama ljubičaste u sredini kolonije, ravnog oboda. Žučkasti pigment sa purpurnim središtem koje se zrakasto širi ka periferiji obrazovali su izolati 4140, 4290, 4436, 4451, 4456 i 4500, dok je kod izolata 4462, 4463, 4467 i 4468 sredina kolonije imala ljubičasti pigment. Izolati 4459, 4470 i 4521 obrazovali su kolonije sa tamnocrvenim pigmentom u sredini i žučkastim obodom. Izolati 4289, 4291, 4449 i 4472 obrazovali su kolonije sa žučkastim pigmentom prošaranim ljubičastom bojom. Izolati 4329, 4450, 4461 i 4474 obrazovali su kolonije sa svetloljubičastim pigmentom.

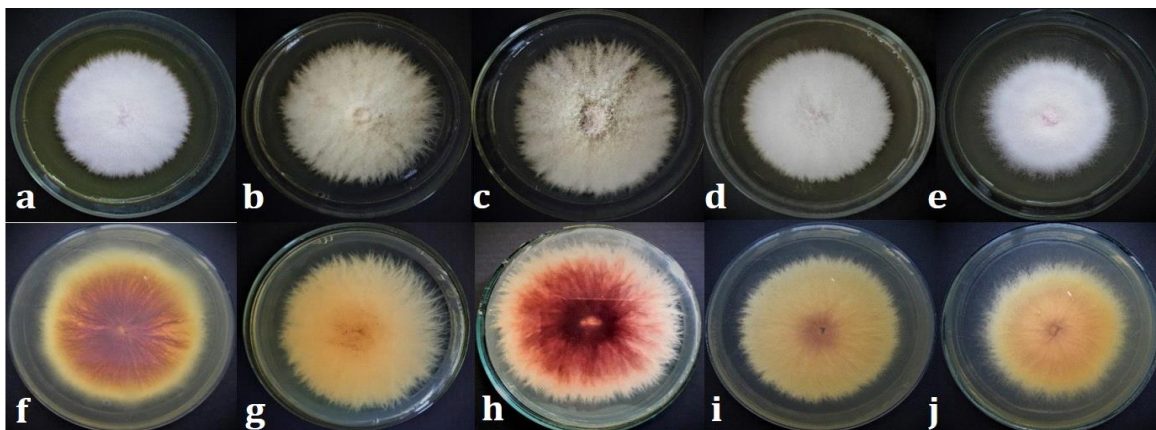
Na osnovu izgleda i boje kolonije, kao i pigmentacije podloge nije bilo moguće razlikovati ove tri vrste, pa samim tim ovo nije dobar kriterijum za njihovu identifikaciju.



Slika 14. Kolonije izolata *F. verticillioides* (a-4140, b-4291, c-4459, d-4461, e-4462; a, b, c, d, e-lice kolonije; f-4140, g-4291, h-4459, i-4461, j-4462; f, g, h, i, j-naličje kolonije) na KDA podlozi.

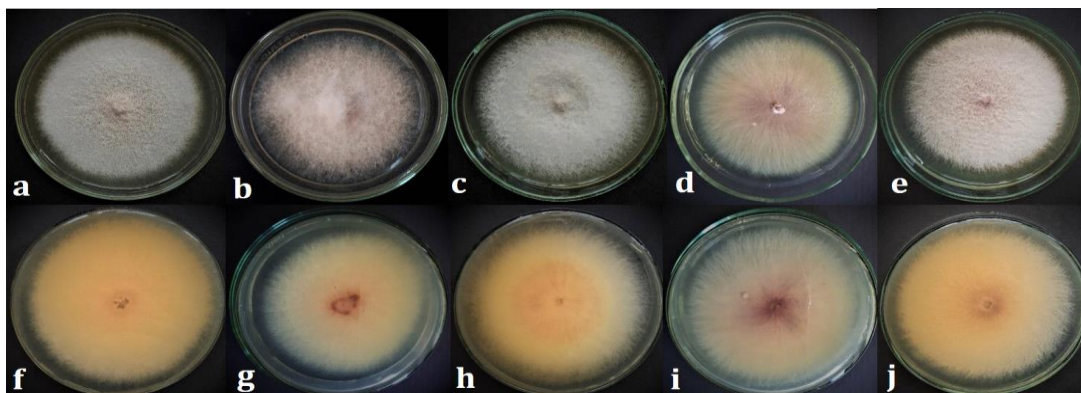
Izolati vrste *F. proliferatum* (4171, 4437, 4444, 4445, 4454 i 4455) obrazovali su beličastu do mrkožutu pamučastu miceliju, zrakastog oboda. Druga grupa izolata (4439, 4323, 4432, 4443, 4460, 4469, 4507, 4509 i 4522) obrazovala je snežno belu miceliju, ravnomerno raspoređenu, bujne vunaste strukture, ravnog do zrakastog oboda. Pigment u podlozi je varirao od mrkožutog (izolati 4171, 4323, 4437, 4444, 4445 i 4455), mrkožutog

sa ljubičastim pigmentom koji se zrakasto širi ka periferiji kolonije (izolati 4432, 4443, 4460 i 4507) do purpurnog u sredini dok je prema periferiji bledo žut (izolati 4439, 4454, 4455, 4469 i 4522) (Slika 15).



Slika 15. Kolonije izolata *F. proliferatum* (a-4439, b-4444, c-4455, d-4460, e-4507; a, b, c, d, e-lice kolonije; f-4439, g-4444, h-4455, i-4460, j-4507; f, g, h, i, j-naličje kolonije) na KDA podlozi.

Izolati vrste *F. subglutinans* ispoljili su varijabilnost u izgledu kolonije (Slika 16). Jedna grupa izolata (4165, 4434, 4440 i 4442) obrazovala je belu, bujnu miceliju, vunaste strukture, ravnomerno raspoređenu, ravnog oboda. Izolati 4433, 4435 i 4452 obrazovali su belu miceliju sa nijansama ružičaste boje, vunaste strukture, bujne u sredini kolonije, rastresite ka periferiji, ravnog oboda. Izolati 4441, 4446, 4453 i 4501 obrazovali su retku, oskudnu, beličastu miceliju sa ljubičastom nijansom u sredini kolonije, ravnog oboda. Izolati 4139, 4287 i 4458 obrazovali su gustu belu miceliju sa nijansama svetloružičaste boje, ravnomerno raspoređenom, ravnog oboda. Pigmentacija podloge je varirala od žućkastog pigmenta (izolati 4139 i 4287), žućkastog ka periferiji, u sredini ljubičastog pigmenta koji se zrakasto širi ka periferiji (izolati 4441, 4440, 4442, 4446 i 4452) do bledo žutog koji je u sredini purpuran (izolati 4165, 4433, 4434 i 4501) ili svetloljubičast (izolati 4435, 4453 i 4458).



Slika 16. Kolonije izolata *F. subglutinans* (a-4287, b-4434, c-4453, d-4441, e-4458; a, b, c, d, e-lice kolonije; f-4287, g-4434, h-4453, i-4441, j-4458; f, g, h, i, j-naličje kolonije) na KDA podlozi.

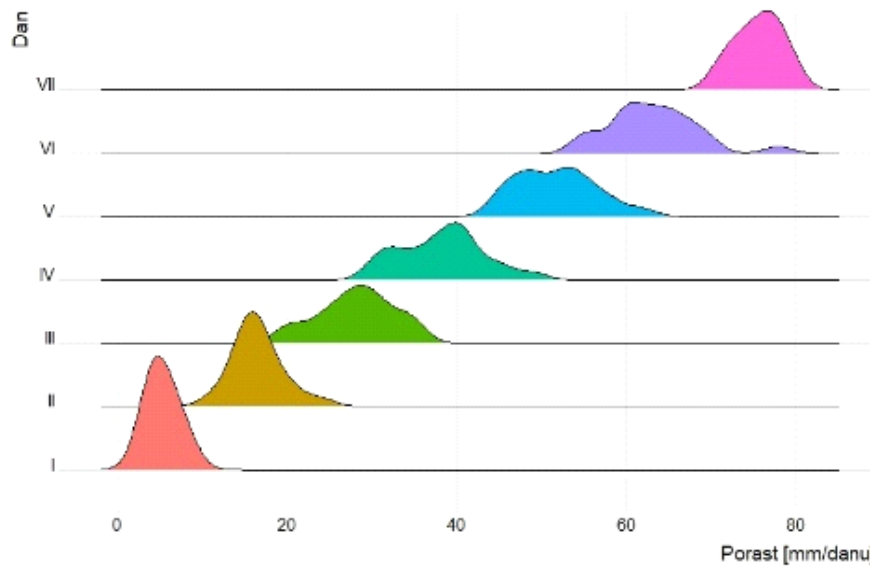
Dnevni porast kolonije

Za potrebe ovog ispitivanja svi izolati vrsta *F. fujikuroi* kompleksa su zasejani na KDA podlogu na kojoj su gajeni pri 25°C u mraku. U Tabeli 6 su prikazani parametri deskriptivne statistike dnevnog porasta kolonije, za vrste *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans*, za sedam dana. Statistička značajnost razlike srednjih vrednosti dnevnog porasta, ispitana je dvofaktorskom analizom varijanse po potpuno slučajnom modelu sa balansiranim dizajnom. Rezultati ove analize su pokazali da nema statistički značajne razlike srednjih vrednosti dnevnog porasta između ove tri vrste, ni u jednom danu. S druge strane, postoji statistički značajna razlika srednjih vrednosti dnevnog porasta između svih sedam dana, kod svake vrste ponaosob (Grafikoni 1, 2 i 3).

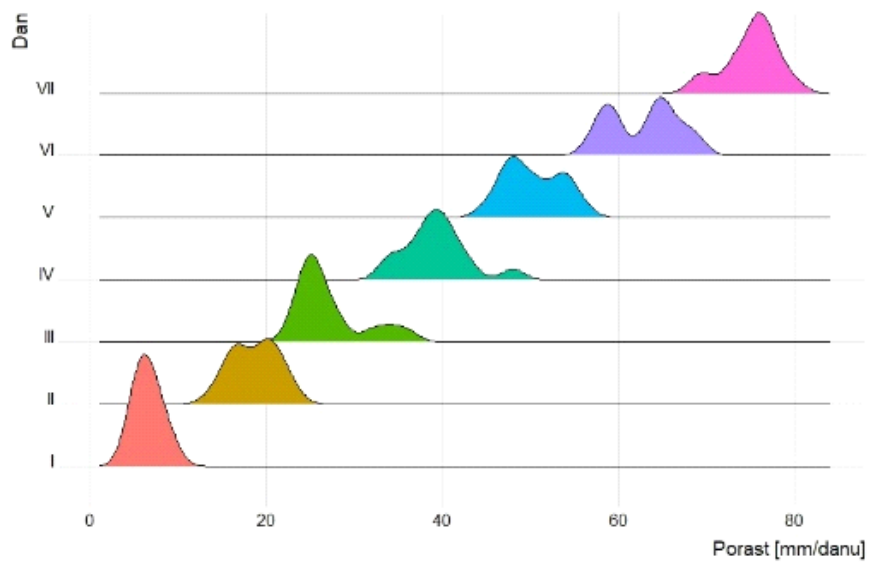
Tabela 6. Parametri deskriptivne statistike za porast kolonije po vrsti gljive i danima na KDA podlozi pri 25°C.

Vrsta	Porast kolonije (mm)							
	Parametar	I DAN	II DAN	III DAN	IV DAN	V DAN	VI DAN	VII DAN
<i>F. verticillioides</i>	Srednja vrednost	5,24Aa	16,48Ab	28,14Ac	38,24Ad	51,81Ae	62,52Af	75,71Ag
	St. devijacija	1,578	2,857	4,442	4,969	4,676	4,355	2,667
	St. greška	0,344	0,623	0,969	1,084	1,02	0,95	0,582
	Minimum	3	11	20	30	45	55	71
	Maksimum	8	24	35	49	62	70	80
<i>F. proliferatum</i>	Srednja vrednost	6,53Aa	18,67Ab	27,13Ac	39,27Ad	50,33Ae	62,87Af	75,13Ag
	St. devijacija	1,356	2,61	3,871	3,555	3,266	3,889	2,949
	St. greška	0,35	0,674	0,999	0,918	0,843	1,004	0,761
	Minimum	5	14	23	34	45	57	69
	Maksimum	9	23	36	48	56	69	80
<i>F. subglutinans</i>	Srednja vrednost	6,93Aa	19,07Ab	29,21Ac	39,57Ad	52,57Ae	64Af	76,21Ag
	St. devijacija	1,269	2,841	4,807	4,91	5,473	4,506	4,136
	St. greška	0,339	0,759	1,285	1,312	1,463	1,204	1,105
	Minimum	5	14	20	32	44	54	70
	Maksimum	9	23	38	49	61	70	87

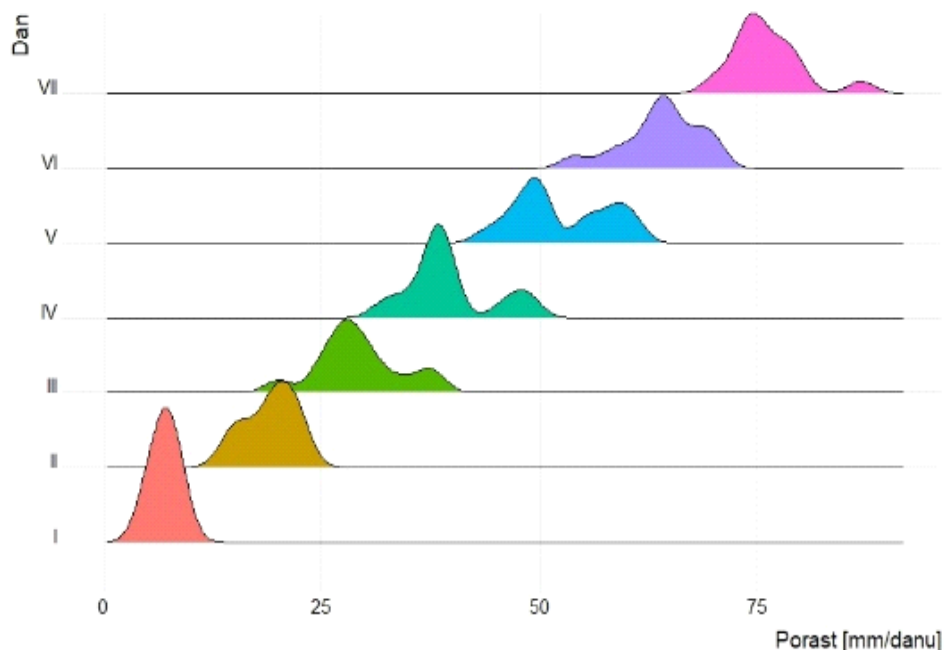
Legenda: Velika latinična slova su korišćena za označavanje statistički značajnih razlika između vrsta gljiva, a mala latinična slova za označavanje statistički značajnih razlika između dana, korišćenjem Tuckey testa na nivou značajnosti 95%.



Grafikon 1. Raspodele dnevnog porasta kolonija vrste *F. verticillioides*.



Grafikon 2. Raspodele dnevnog porasta kolonija vrste *F. proliferatum*.



Grafikon 3. Raspodele dnevnog porasta kolonija vrste *F. subglutinans*.

4.4.2. Mikroskopske karakteristike izolata

Proučavanjem mikroskopskih karakteristika *F. fujikuroi* kompleksa uočeno je da su svi izolati ovog kompleksa obrazovali makrokonidije i mikrokonidije, dok su mezokonidije obrazovali samo izolati vrste *F. subglutinans*. Prisustvo hlamidospora nije zabeleženo ni kod jednog izolata vrsta *F. fujikuroi* kompleksa.

Opis makrokonidija

Izolati vrste *F. verticillioides* formirali su duge, blago savijene do skoro prave makrokonidije sa tri do pet septi, uglavnom sa paralelnom dorzalnom i ventralnom stranom. Makrokonidije su se formirale u sporodohijama. Apikalna ćelija je bila blago savijena, dok je bazalna ćelija bila u obliku stopala (Slika 17-a). Dužina makrokonidija se kretala od 31,45 μm (izolat 4449) do 39,98 μm (izolati 4461 i 4521), dok se širina makrokonidija kretala od 3 μm (izolat 4436) do 4,16 μm (izolati 4140, 4290, 4329 i 4456) (Tabela 7, Grafikon 4). Prosečna dužina makrokonidija kod izolata vrste *F. verticillioides* iznosila je 35,77 μm , a prosečna širina 3,72 μm .

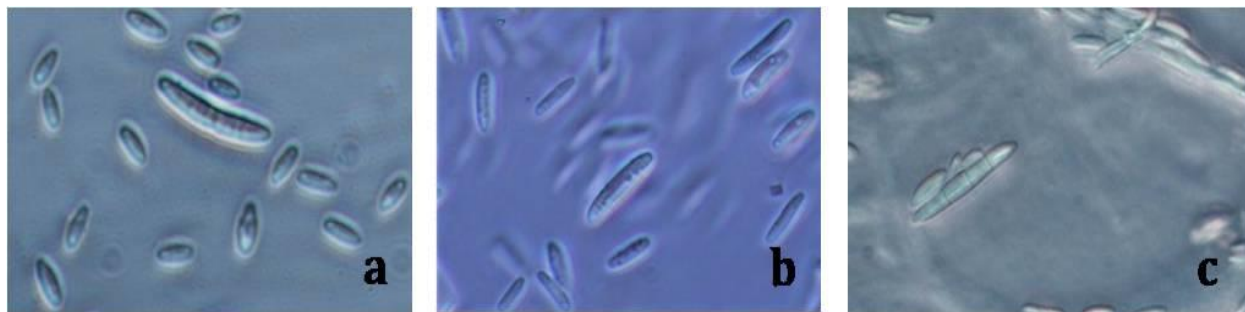
Izolati vrste *F. proliferatum* su formirali blago savijene do skoro prave makrokonidije, tankih zidova, paralelne dorzalne i ventralne strane. Makrokonidije su se formirale u sporodohijama. Bazalna ćelija je bila u obliku stopala, a apikalna ćelija je bila zakrivljena (Slika 17-b). Makrokonidije su imale od tri do pet septi. Dužina makrokonidija kretala se od 30,12 μm (izolat 4432) do 44,74 μm (izolat 4432), dok se širina makrokonidija kretala od 2,94 μm (izolat 4437) do 5 μm (izolati 4171, 4323, 4443, 4444 i 4454) (Tabela 8, Grafikon 4). Prosečna dužina makrokonidija kod izolata vrste *F. proliferatum* iznosila je 35 μm , a prosečna širina 4,29 μm .

Proučavani izolati vrste *F. subglutinans* formirali su duge, blago savijene do skoro prave makrokonidije sa tri do pet septi, paralelne dorzalne i ventralne strane. Makrokonidije su se formirale u sporodohijama. Apikalna ćelija je bila zakrivljena, dok je bazalna ćelija bila u obliku stopala (Slika 17-c). Dužina makrokonidija kretala se od 45,37 μm (izolat 4501) do 54,72 μm (izolat 4434), dok se širina makrokonidija kretala od 3,46 μm (izolat 4453) do 4,93 μm (izolat 4458) (Tabela 9, Grafikon 4). Prosečna dužina makrokonidija kod izolata vrste *F. subglutinans* iznosila je 51,51 μm , a prosečna širina 4,33 μm .

Grupa izolata vrste *F. verticillioides* koja se nalazi na istom nivou značajnosti i formira najduže makrokonidije čini izolate 4468, 4470, 4471, 4521 i referentni izolat RBG 1603 Q27. Izolati 4140, 4436, 4449, 4459 i 4472 se statistički značajno ne razlikuju i formiraju najkraće makrokonidije. Na osnovu širine makrokonidija izolati vrste *F. verticillioides* se statistički značajno ne razlikuju.

Izolati vrste *F. proliferatum* koji se nalaze na istom statističkom nivou značajnosti su 4437, 4439, 4444 i 4445. Ovi izolati formiraju najkraće makrokonidije. Izolat 4171 se izdvaja od ostalih izolata i formira najduže makrokonidije. U pogledu širine makrokonidija, izolati 4171, 4443, 4454, 4507 i referentni izolat RBG 1613 Q15 se nalaze na istom nivou značajnosti. Ovi izolati su formirali najšire makrokonidije. Izolati 4437, 4439, 4444, 4445, 4460, 4469 i 4521 formirali su najuže makrokonidije i statistički značajno se ne razlikuju.

Po dužini makrokonidija, izolat 4452 vrste *F. subglutinans* statistički značajno se razlikuje od ostalih izolata. Izolati 4453 i 4501 se nalaze na istom nivou značajnosti i formiraju najkraće makrokonidije, dok izolati 4165 i 4435 formiraju najduže makrokonidije, i takođe se nalaze na istom nivou značajnosti. Po širini makrokonidija svi izolati, osim izolata 4453 i 4501, se statistički značajno ne razlikuju.



Slika 17. Makrokonidije vrsta *F. fujikuroi* kompleksa: a-*F. verticillioides*, b-*F. proliferatum*, c-*F. subglutinans*.

Tabela 7. Parametri deskriptivne statistike za dužinu i širinu makrokonidija izolata vrste *F. verticillioides*.

IZOLAT	Dužina (mm)					Širina (mm)				
	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. iz.	37,22efg	1,32	0,24	34,74	39,74	3,65ab	0,21	0,04	3,1	4,1
4140	34,91abc	1,94	0,35	31,61	38,36	3,61a	0,28	0,05	3,1	4,16
4289	36,16cde	1,36	0,25	33,47	38,25	3,72abc	0,24	0,04	3,29	4,14
4290	35,66bcd	1,37	0,25	32,88	38,1	3,72abc	0,22	0,04	3,25	4,16
4291	35,5bcd	1,59	0,29	32,15	38,91	3,65ab	0,23	0,04	3,24	4,05
4329	35,2bcd	1,49	0,27	33,26	39,44	3,69abc	0,25	0,05	3,25	4,16
4436	34,77ab	1,33	0,24	32,41	37,55	3,75abc	0,27	0,05	3	4,14
4449	34,61ab	1,79	0,33	31,45	38,31	3,65ab	0,26	0,05	3,18	4,09
4450	34,96bc	1,27	0,23	32,22	37,02	3,68abc	0,28	0,05	3,15	4,04
4451	35,07bcd	1,25	0,23	33,26	38,25	3,74abc	0,21	0,04	3,3	4,15
4456	35,64bcd	1,86	0,34	32,15	39,74	3,85bc	0,21	0,04	3,49	4,16
4459	34,61ab	1,25	0,23	32,41	37,16	3,74abc	0,24	0,04	3,13	4,2
4461	35,59bcd	1,44	0,26	32,29	38,98	3,77abc	0,22	0,04	3,33	4,2
4462	36,11cde	1,22	0,22	34,29	38,54	3,8abc	0,22	0,04	3,46	4,2
4463	35,53bcd	1,05	0,19	33,76	37,87	3,78abc	0,21	0,04	3,36	4,12
4467	36,28def	1,24	0,23	34,17	38,31	3,73abc	0,18	0,03	3,49	4,1
4468	38,05g	1,15	0,21	34,37	39,8	3,66ab	0,27	0,05	3,19	4,11
4470	37,16efg	1,33	0,24	34,44	39,55	3,66ab	0,18	0,03	3,22	4,03
4471	37,49fg	1,16	0,21	35,66	39,34	3,65ab	0,24	0,04	3,15	4,02
4472	33,64a	0,95	0,17	32,17	35,56	3,89c	0,21	0,04	3,47	4,2
4500	35,08bcd	1,01	0,18	33,22	37,87	3,76abc	0,21	0,04	3,44	4,15
4521	37,76g	1,14	0,21	35,51	39,98	3,79abc	0,17	0,03	3,48	4,15

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

Tabela 8. Parametri deskriptivne statistike za dužinu i širinu makrokonidija, izolata vrste *F. proliferatum*.

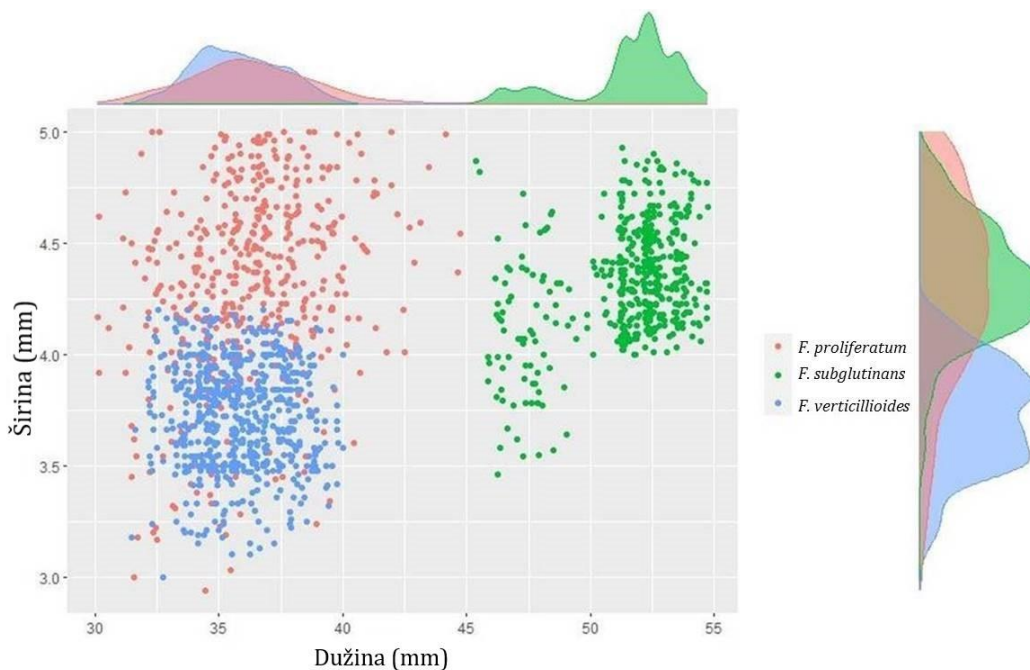
IZOLAT	Dužina (mm)					Širina (mm)				
	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. iz.	36,44abcd	1,65	0,3	31,46	39,24	4,44c	0,28	0,05	3,8	4,98
4171	38,24d	4,01	0,73	31,86	44,64	4,43c	0,4	0,07	3,19	5
4323	37,82cd	3,15	0,57	32,21	44,16	4,36bc	0,51	0,09	3,24	5
4432	37,43bcd	2,66	0,49	30,12	44,74	4,36bc	0,39	0,07	3,37	4,99
4437	34,93a	1,79	0,33	31,57	40,68	3,99a	0,51	0,09	2,94	4,8
4439	35a	3,1	0,57	30,14	39,64	4,17abc	0,45	0,08	3,22	4,96
4443	36,35abcd	2,22	0,41	31,59	39,99	4,5c	0,32	0,06	3,6	5
4444	34,66a	1,61	0,29	31,66	38,84	4,06ab	0,4	0,07	3,38	5
4445	34,99a	2,37	0,43	31,48	39,77	3,97a	0,51	0,09	3	4,99
4454	36,6abcd	3,05	0,56	31,2	41,74	4,43c	0,31	0,06	3,92	5
4455	36,67abcd	2,91	0,53	31,22	41,29	4,36bc	0,32	0,06	3,79	4,99
4460	35,66ab	1,21	0,22	33,45	38,08	4,29abc	0,37	0,07	3,54	4,83
4469	36,37abcd	1,33	0,24	33,82	39,65	4,31abc	0,36	0,07	3,78	4,98
4507	36,56abcd	1,23	0,22	34,67	39,24	4,42c	0,36	0,07	3,56	4,93
4509	36,01abc	1,06	0,19	33,89	38,22	4,36bc	0,3	0,06	3,68	4,94
4522	36,44abcd	2,15	0,39	31,46	40,11	4,26abc	0,5	0,09	3,03	4,95

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

Tabela 9. Parametri deskriptivne statistike za dužinu i širinu makrokonidija izolata vrste *F. subglutinans*.

IZOLAT	Dužina (mm)					Širina (mm)				
	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. iz.	52,2cd	0,92	0,17	50,45	54,34	4,4b	0,23	0,04	4,04	4,87
4139	52,43cd	0,95	0,17	51,17	54,66	4,32b	0,22	0,04	4	4,81
4165	53,07d	1,02	0,19	51,22	54,68	4,36b	0,19	0,03	4,08	4,85
4287	52,28cd	1,1	0,2	50,12	53,84	4,32b	0,24	0,04	4	4,83
4433	52,72cd	1,05	0,19	51,17	54,69	4,48b	0,18	0,03	4,15	4,84
4434	52,68cd	0,86	0,16	51,27	54,72	4,4b	0,23	0,04	4,07	4,87
4435	53,04d	0,82	0,15	51,16	54,44	4,38b	0,2	0,04	4,01	4,72
4440	52,51cd	1,04	0,19	50,78	54,39	4,37b	0,23	0,04	4,06	4,87
4441	51,89c	0,84	0,15	50,11	54,21	4,36b	0,2	0,04	4,04	4,72
4442	52,12c	0,85	0,16	50,63	53,66	4,42b	0,19	0,04	4,12	4,83
4446	52,33cd	0,84	0,15	50,65	54,66	4,36b	0,2	0,04	4,03	4,9
4452	49,13b	1,63	0,3	46,25	52,78	4,34b	0,19	0,04	4,06	4,72
4453	47,36a	0,9	0,16	46,21	49,86	3,98a	0,22	0,04	3,46	4,39
4458	51,92c	0,79	0,14	50,59	53,44	4,38b	0,24	0,04	4,06	4,93
4501	46,92a	0,91	0,17	45,37	49,03	4,07a	0,36	0,07	3,54	4,87

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).



Grafikon 4. Dijagram rasipanja dužine i širine makrokonidija izolata vrsta *F. proliferatum*, *F. subglutinans* i *F. verticillioides*.

Na Grafikonu 4 je prikazan dijagram rasipanja izolata za sve tri vrste analiziranih gljiva po dužini i širini makrokonidija. Marginalne raspodele dužine makrokonidija ovih vrsta (gornja strana dijagrama) pokazuju da je raspodela dužine makrokonidija gljive *F. subglutinans* pomeren u desno, što ukazuje na činjenicu da ova vrsta ima duže makrokonidije u odnosu na preostale dve vrste. Raspodele dužine makrokonidija vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum* se preklapaju, što ukazuje da ove dve vrste imaju slične dužine makrokonidija. Marginalne raspodele širine makrokonidija su prikazane desno na Grafikonu 4 i pokazuju da je raspodela širine makrokonidija vrste *F. verticillioides* niža u odnosu na preostale dve raspodele, što pokazuje da ova gljiva ima uže makrokonidije u odnosu na druge dve vrste. Raspodele širine makrokonidija vrsta *F. proliferatum* i *F. subglutinans* se preklapaju, što ukazuje da ove dve vrste imaju sličnu širinu makrokonidija.

Opis mezokonidija

Svi ispitivani izolati vrste *F. subglutinans* formirali su prave ili blago savijene mezokonidije vretenastog oblika, zatupastog vrha, sa jednom septom. Dužina mezokonidija kretala se od 20,12 μm (izolat 4433) do 30,72 μm (izolat 4433), a širina od 3,11 μm (izolat 4501) do 4,39 μm (izolat 4287). Prosečna dužina mezokonidija kod izolata vrste *F. subglutinans* iznosila je 25,83 μm , a prosečna širina 3,78 μm . Na osnovu dužine mezokonidija izolati 4433 i 4453 se nalaze na istom nivou značajnosti i formiraju najduže mezokonidije dok izolati 4434 i 4440 formiraju najkraće mezokonidije i takođe se statistički značajno ne razlikuju. Na osnovu širine mezokonidija svi izolati se statistički značajno ne razlikuju (Tabela 10).

Tabela 10. Parametri deskriptivne statistike za dužinu i širinu mezokonidija izolata vrste *F. subglutinans*.

IZOLAT	Dužina (mm)					Širina (mm)				
	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. iz.	26,5bcd	1,5	0,27	22,42	29,24	3,83a	0,26	0,05	3,34	4,33
4139	26,11abcd	2,95	0,54	21,2	29,88	3,79a	0,25	0,05	3,13	4,31
4165	25,43abcd	2,11	0,39	22,15	29,74	3,74a	0,26	0,05	3,13	4,33
4287	25,55abcd	1,4	0,25	22,45	28,08	3,76a	0,28	0,05	3,33	4,39
4433	27d	2,38	0,43	20,12	30,72	3,79a	0,24	0,04	3,34	4,36
4434	24,66ab	1,91	0,35	21,57	29,68	3,81a	0,22	0,04	3,33	4,33
4435	26,23abcd	2,39	0,44	21,59	29,99	3,73a	0,22	0,04	3,37	4,16
4440	24,48a	1,76	0,32	21,66	28,84	3,8a	0,26	0,05	3,13	4,36
4441	24,85abc	2,5	0,46	21,48	29,77	3,76a	0,25	0,05	3,33	4,38
4442	26,17abcd	2,65	0,48	21,22	29,77	3,88a	0,21	0,04	3,47	4,33
4446	26,27abcd	2,22	0,41	21,46	29,44	3,75a	0,34	0,06	3,13	4,33
4452	26,33abcd	1,4	0,26	22,82	29,65	3,86a	0,23	0,04	3,43	4,36
4453	26,55cd	1,24	0,23	24,67	29,24	3,72a	0,22	0,04	3,33	4,08
4458	25,4abcd	2,74	0,5	20,14	29,64	3,78a	0,26	0,05	3,34	4,36
4501	25,98abcd	1,15	0,21	22,89	28,22	3,71a	0,24	0,04	3,11	4,07

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

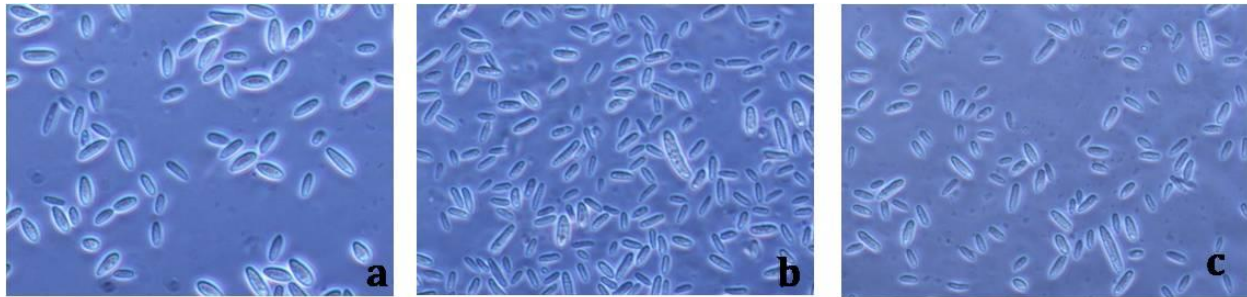
Opis mikrokonidija

Ispitivani izolati vrste *F. verticillioides* su formirali na vazdušnoj miceliji konidiofore tipa monofijalida. Na vrhu monofijalida u vidu dužih nizova (10 do 35 mikrokonidija) formirale su se mikrokonidije ovalnog oblika sa zaravnjenom osnovom, bez septi (Slika 18-a). Dužina mikrokonidija je varirala i kretala se u rasponu od od 9,84 μm (izolat 4521) do 19,78 μm (izolat 4436), dok su se ove vrednosti, kada je u pitanju širina mikrokonidija kretale od 3,09 μm (izolat 4289) do 7,14 μm (izolat 4471) (Tabela 11, Grafikon 5). Prosečna dužina mikrokonidija kod izolata vrste *F. verticillioides* iznosila je 14,54 μm , a prosečna širina 4,1 μm .

Proučavani izolati vrste *F. proliferatum* formirali su mikrokonidije na vazdušnoj miceliji u nizovima (sedam do 18 mikrokonidija) iz monofijalida i polifijalida. Nizovi mikrokonidija su bili kraći nego kod vrste *F. verticillioides* i formirali su karakterističan oblik „V“ kada se kultura gleda *in situ*. Ova vrsta formirala je mikrokonidije ovalnog oblika, sa ravnom osnovom, bez septi (Slika 18-b). Dužina mikrokonidija varirala je i kretala se od 11,22 μm (izolat 4171) do 14,76 μm (izolat 4445), dok se širina mikrokonidija kretala od 3,11 μm (izolat 4443) do 4,91 μm (izolat 4455) (Tabela 12, Grafikon 5). Prosečna dužina mikrokonidija kod izolata vrste *F. proliferatum* iznosila je 13,25 μm , a prosečna širina 4,04 μm .

Izolati vrste *F. subglutinans* formirali su pojedinačne mikrokonidije ovalnog oblika, bez septi (Slika 18-c) u lažnim glavicama na vrhu monofijalida i polifijalida. Dužina mikrokonidija kretala se od 10,15 μm (izolat 4433) do 19,93 μm (izolat 4453), dok se širina mikrokonidija kretala od 3,12 μm (izolat 4501) do 5,35 μm (izolat 4287) (Tabela 13,

Grafikon 5). Prosečna dužina mikrokonidija kod izolata vrste *F. subglutinans* iznosila je 15,52 μm , a prosečna širina 4,21 μm .



Slika 18. Mikrokonidije vrsta *F. fujikuroi* kompleksa: a-*F. verticillioides*, b-*F. proliferatum*, c-*F. subglutinans*.

Uporedni prikaz prosečne dužine i širine mikrokonidija izolata vrsta *F. fujikuroi* kompleksa prikazan je u Tabelama 11, 12 i 13. Izolati vrste *F. verticillioides* koji su na istom nivou značajnosti i formiraju najkraće mikrokonidije su 4289, 4291, 4459, 4468 i 4521. Izolati 4471, 4472, 4449 i 4436, takođe se nalaze na istom nivou značajnosti i formiraju najduže mikrokonidije. Na osnovu širine mikrokonidija, izolat 4463 se statistički značajno razlikuje od ostalih izolata jer je obrazovao najšire mikrokonidije. Izolati 4140, 4462, 4467 i referentni izolat RBG 1603 Q27 su na istom nivou značajnosti i formiraju najuže mikrokonidije. Izolati koji se takođe statistički značajno ne razlikuju su 4436 i 4471, i formiraju najšire mikrokonidije. Izolati vrste *F. proliferatum* koji se nalaze na istom nivou značajnosti na osnovu dužine mikrokonidija su 4171, 4323 i 4509. Ovi izolati se statistički značajno razlikuju od ostalih izolata. Na osnovu širine mikrokonidija izdvajaju se dve grupe izolata. Prva grupa (izolati 4439, 4444, 4454, 4455, 4522 i referentni izolat) formira šire mikrokonidije, dok druga grupa izolata (4171, 4323, 4443, 4445 i 4507) formira uže mikrokonidije. Izolati vrste *F. subglutinans* koji se statistički značajno ne razlikuju su 4501 i 4139 (formiraju najkraće mikrokonidije), i izolati 4442, 4446, 4453 i 4435 (formiraju najduže mikrokonidije). Na osnovu širine mikrokonidija, svi izolati osim izolata 4139, 4441 i 4501, se nalaze na istom nivou značajnosti.

Tabela 11. Parametri deskriptivne statistike za dužinu i širinu mikrokonidija izolata vrste *F. verticillioides*.

IZOLAT	Dužina (mm)					Širina (mm)				
	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. iz.	14,17abc	1,89	0,34	11,55	18,17	3,91a	0,4	0,07	3,27	4,5
4140	14,39abcd	1,72	0,31	10,71	18,71	3,92ab	0,43	0,08	3,34	5,61
4289	13,61ab	1,18	0,22	11,29	15,46	4,02abc	0,33	0,06	3,09	4,54
4290	14,01abc	1,16	0,21	12,27	16,49	4,09abc	0,27	0,05	3,61	4,5
4291	13,23a	1,46	0,27	11,01	16,79	4,09abc	0,31	0,06	3,52	4,58
4329	14,16abc	1,49	0,27	11,34	16,88	4,14abc	0,32	0,06	3,34	4,78
4436	15,87def	1,77	0,32	11,64	19,78	4,3c	0,16	0,03	3,91	4,51
4449	16,06ef	1,61	0,29	13,2	18,74	4,19abc	0,29	0,05	3,57	4,54
4450	14,02abc	1,61	0,29	11,86	17,81	4,11abc	0,28	0,05	3,61	4,5
4451	14,47abcd	1,45	0,26	11,92	18,08	4,07abc	0,31	0,06	3,42	4,61
4456	14,29abc	1,3	0,24	11,84	17,82	4,07abc	0,32	0,06	3,53	4,5
4459	13,5a	1,7	0,31	10,93	18,52	4,06abc	0,29	0,05	3,62	4,5
4461	14,45abcd	1,59	0,29	11,09	17,52	4,19abc	0,24	0,04	3,64	4,51
4462	15,04bcde	1,75	0,32	11,04	18,74	3,97ab	0,35	0,06	3,23	4,5
4463	14,32abc	2,14	0,39	10,15	19,08	4,65d	0,44	0,08	3,72	5,68
4467	13,94abc	1,49	0,27	11,15	16,92	3,91ab	0,31	0,06	3,53	4,63
4468	13,41a	1,24	0,23	10,65	16,15	4,08abc	0,37	0,07	3,26	4,5
4470	15,88def	1,66	0,3	12,78	18,84	3,99abc	0,37	0,07	3,27	4,5
4471	16,79f	1,31	0,24	13,77	19,23	4,23bc	0,63	0,12	3,14	7,14
4472	16,02ef	1,56	0,28	12,13	18,92	4,15abc	0,3	0,05	3,47	4,5
4500	15,23cde	1,61	0,29	11,56	18,01	4,07abc	0,29	0,05	3,57	4,82
4521	13,05a	2,39	0,44	9,84	18,9	4,09abc	0,27	0,05	3,56	4,5

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

Tabela 12. Parametri deskriptivne statistike za dužinu i širinu mikrokonidija izolata vrste *F. proliferatum*.

IZOLAT	Dužina (mm)					Širina (mm)				
	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. iz.	13,53c	0,48	0,09	12,29	14,66	4,25fg	0,3	0,05	3,59	4,77
4171	12,83ab	0,75	0,14	11,22	13,89	3,76abc	0,31	0,06	3,22	4,43
4323	12,61a	0,77	0,14	11,34	13,77	3,89abcd	0,21	0,04	3,55	4,32
4432	13,19bc	0,79	0,14	11,73	14,66	3,96cde	0,33	0,06	3,45	4,77
4437	13,67c	0,53	0,1	12,34	14,54	3,96bcde	0,29	0,05	3,42	4,53
4439	13,27bc	0,59	0,11	11,76	13,93	4,18efg	0,35	0,06	3,49	4,74
4443	13,61c	0,48	0,09	12,45	14,72	3,68a	0,24	0,04	3,11	3,99
4444	13,4c	0,52	0,1	11,76	14,45	4,3fg	0,18	0,03	4,06	4,72
4445	13,48c	0,63	0,11	11,76	14,76	3,68ab	0,26	0,05	3,22	4,14
4454	13,36bc	0,65	0,12	11,31	14,32	4,4g	0,24	0,04	4,07	4,86
4455	13,33bc	0,62	0,11	11,76	14,12	4,26fg	0,42	0,08	3,29	4,91
4460	13,21bc	0,67	0,12	11,31	14,5	4,11def	0,37	0,07	3,27	4,77
4469	13,33bc	0,66	0,12	11,31	14,54	4,09def	0,28	0,05	3,66	4,64
4507	13,4c	0,59	0,11	12,44	14,52	3,84abcd	0,39	0,07	3,12	4,62
4509	12,61a	0,69	0,13	11,31	13,88	4,07def	0,36	0,06	3,18	4,5
4522	13,26bc	0,65	0,12	11,31	14,66	4,2efg	0,3	0,06	3,67	4,66

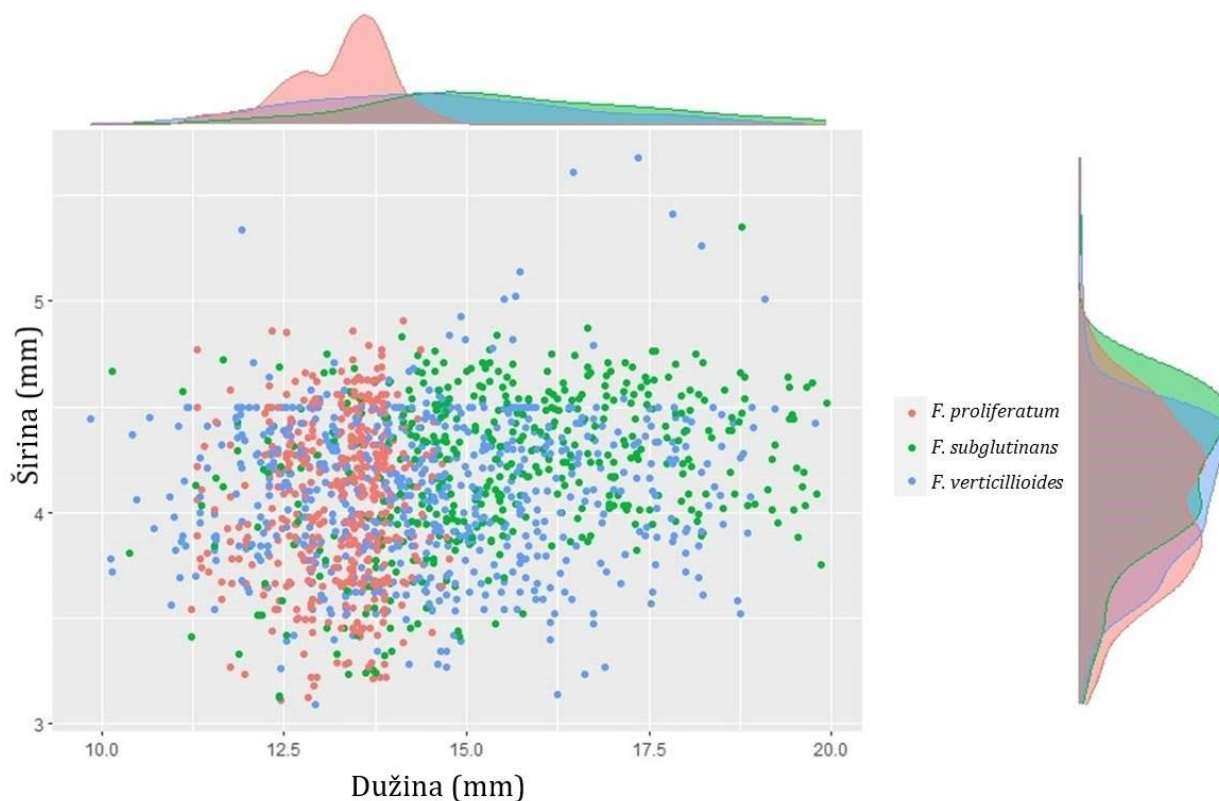
Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

Tabela 13. Parametri deskriptivne statistike za dužinu i širinu mikrokonidija izolata vrste *F. subglutinans*.

IZOLAT	Dužina (mm)					Širina (mm)				
	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. iz.	15,21abc	1,16	0,21	12,27	17,14	4,25bcd	0,32	0,06	3,52	4,71
4139	14,7ab	1,05	0,19	12,69	16,92	4ab	0,39	0,07	3,33	4,87
4165	15,82abc	1,9	0,35	11,22	19,86	4,16bcd	0,4	0,07	3,32	4,76
4287	15,39abc	1,48	0,27	11,88	18,77	4,37cd	0,35	0,06	3,33	5,35
4433	15,69abc	2,47	0,45	10,15	19,47	4,27bcd	0,37	0,07	3,45	4,84
4434	15,54abc	2,81	0,51	11,28	19,54	4,21bcd	0,29	0,05	3,58	4,69
4435	16,17bc	1,79	0,33	13,83	19,64	4,17bcd	0,27	0,05	3,66	4,67
4440	15,6abc	2,55	0,46	11,11	19,8	4,27bcd	0,23	0,04	3,84	4,64
4441	15,15abc	1,31	0,24	12,98	17,85	4,08abc	0,4	0,07	3,23	4,67
4442	16,42c	2,06	0,38	12,21	19,73	4,31cd	0,31	0,06	3,41	4,68
4446	16,39c	1,92	0,35	12,69	19,65	4,29bcd	0,27	0,05	3,82	4,76
4452	14,84abc	1,89	0,35	11,36	18,75	4,31cd	0,36	0,07	3,47	4,83
4453	16,43c	1,49	0,27	13,45	19,93	4,41d	0,23	0,04	3,87	4,71
4458	15,24abc	1,71	0,31	11,67	19,6	4,33cd	0,29	0,05	3,8	4,75
4501	14,23a	0,79	0,14	12,43	15,76	3,8a	0,39	0,07	3,12	4,54

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

Na Grafikonu 5 je prikazan dijagram rasipanja izolata za sve tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa po dužini i širini mikrokonidija. Marginalne raspodele dužine mikrokonidija, pokazuju da je raspodela kod vrste *F. proliferatum* pomeren u levo u odnosu na preostale dve raspodele, što ukazuje na činjenicu da ova vrsta formira kraće mikrokonidije u odnosu na preostale dve vrste gljiva. Raspodele dužine mikrokonidija vrsta *F. subglutinans* i *F. verticillioides* se preklapaju i vrlo su spljoštene što ukazuje na veliku varijabilnost dužine mikrokonidija. Marginalne raspodele širine mikrokonidija, prikazane desno na Grafikonu 5, se preklapaju što ukazuje na činjenicu da se širine mikrokonidija kod ove tri vrste gljiva ne razlikuju.



Grafikon 5. Dijagram rasipanja dužine i širine mikrokonidija izolata vrsta *F. proliferatum*, *F. subglutinans* i *F. verticillioides*.

4.5. Virulentnost izolata

4.5.1. Virulentnost izolata na listovima ječma

Sedam dana nakon inokulacije na listovima ječma oko mesta inokulacije formirale su se nekrotične pege različite dužine.

Modelom dvofaktorske analize varijanse po hijerarhijskom planu, ispitivan je uticaj vrste gljive i izolata na ocenu virulentnosti. Rezultati testiranja su pokazali da nema statistički značajne razlike u virulentnosti na listu ječma između vrsta *F. subglutinans* (4,563) i *F. proliferatum* (4,564), dok je vrsta *F. verticillioides* imala značajno nižu srednju ocenu virulentnosti u odnosu na prve dve vrste (2,914). Ispitivanje statističke značajnosti razlike srednjih ocena virulentnosti izolata, sprovedeno je jednofaktorskom analizom varijanse po potpuno slučajnom planu, sa balansiranim dizajnom. Za naknadna poređenja, korišćen je Tuckey test ($p < 0,05$). Rezultati ovih upoređivanja dati su na grafikonima 6, 7 i 8 i u tabelama 14, 15 i 16.

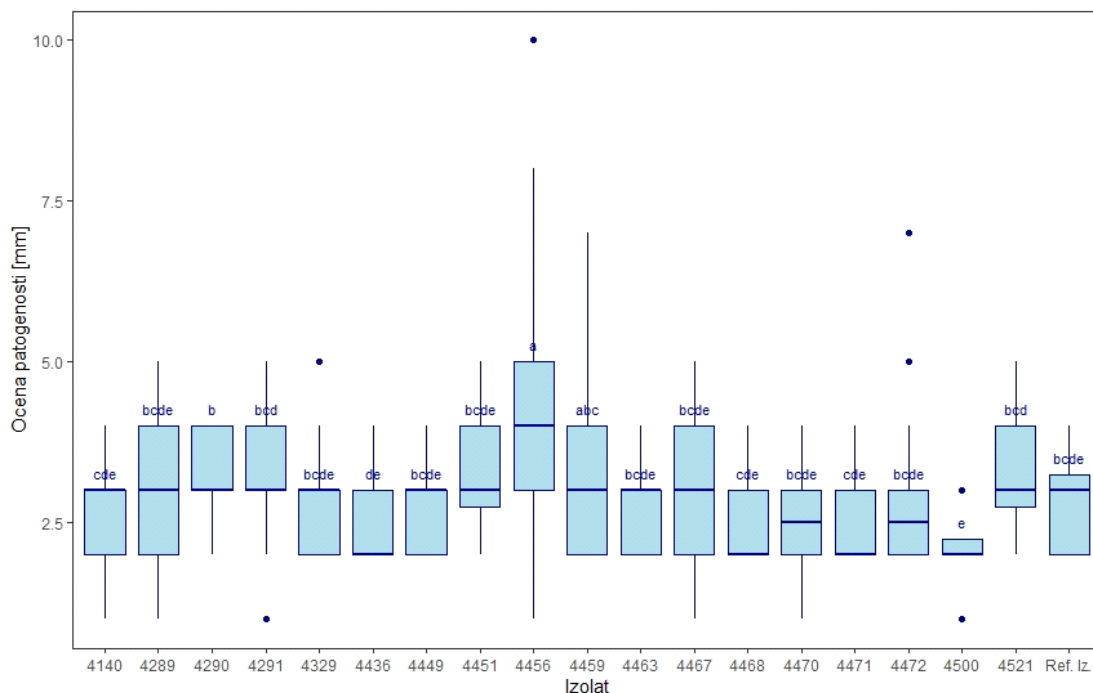
Između izolata u okviru svake vrste uočena je razlika u njihovoj virulentnosti na listovima ječma. Od svih ispitivanih izolata vrste *F. verticillioides* prema intenzitetu oboljenja izdvajaju se izolati 4456 (dužina pege 4,42 mm) i 4459 (dužina pege 3,42 mm). Kod preostalih izolata izmerena je prosečna dužina pege u rasponu od 2,33 do 3,42 mm što ukazuje da su ovi izolati na statistički značajno nižem nivou u odnosu na izolate 4456 i 4459 (Tabela 14, Grafikon 6). Izolati vrste *F. proliferatum* 4437, 4439, 4443 i 4455 formirali

su najduže pege (6,33-7,67 mm) i nalaze se na istom nivou značajnosti. Izolati 4323, 4432, 4454, 4460, 4469 i referentni izolat RBG 1613 Q15 su formirali najkraće pege (2,29-3,71 mm) i takođe se statistički značajno ne razlikuju. Ostali izolati ove vrste (4171, 4444, 4445, 4507, 4509 i 4522) formirali su pege u raponu od 4,04 do 5,42 mm (Tabela 15, Grafikon 7). Izolati vrste *F. subglutinans* koji se nalaze na istom nivou značajnosti su 4165, 4433, 4442 i 4501. Ova grupa izolata formirala je najduže pege (5,79-7,13 mm). Druga grupa izolata (4139, 4287, 4441, 4446, 4452, 4453 i referentni izolat RBG 3591 Q23) koja se statistički značajno ne razlikuje je formirala najkraće pege od 2,92 do 4,33 mm (Tabela 16, Grafikon 8).

Tabela 14. Parametri deskriptivne statistike za ocenu virulentnosti izolata vrste *F. verticillioides* na listu ječma.

Izolat	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. izolat	2,92bcde	0,78	0,16	2	4
4140	2,63cde	0,82	0,12	1	4
4289	2,88bcde	1,44	0,21	1	5
4290	3,42b	0,58	0,08	2	4
4291	3,21bcd	1,02	0,21	1	5
4329	2,83bcde	0,87	0,18	2	5
4436	2,33de	0,56	0,12	2	4
4449	2,79bcde	0,59	0,12	2	4
4451	3,17bcde	0,92	0,19	2	5
4456	4,42a	2,04	0,42	1	10
4459	3,42abc	1,5	0,31	2	7
4463	2,71bcde	0,62	0,13	2	4
4467	2,79bcde	1,06	0,22	1	5
4468	2,5cde	0,59	0,12	2	4
4470	2,54bcde	0,72	0,15	1	4
4471	2,5cde	0,59	0,12	2	4
4472	2,92bcde	1,28	0,26	2	7
4500	2,17e	0,56	0,12	1	3
4521	3,25bcd	0,9	0,18	2	5

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

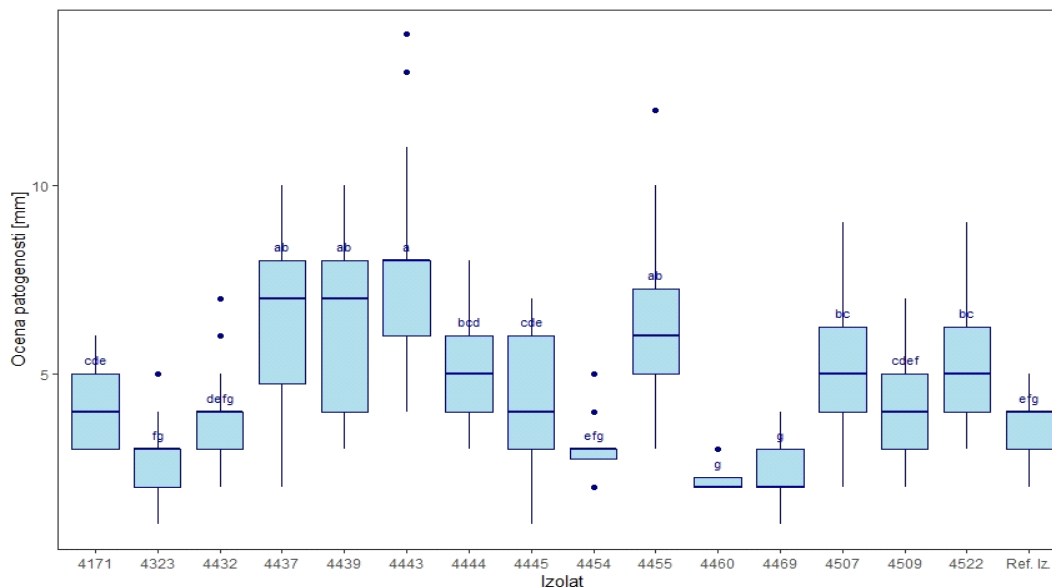


Grafikon 6. Boks plot sa rezultatima jednofaktorske analize varijanse za ocenu virulentnosti izolata vrste *F. verticillioides* na listovima ječma. Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$). Vertikalni bar označava standardnu grešku sredine.

Tabela 15. Parametri deskriptivne statistike za ocenu virulentnosti izolata vrste *F. proliferatum* na listu ječma.

Izolat	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. izolat	3,54efg	0,66	0,13	2	5
4171	4,25cde	1,11	0,23	3	6
4323	2,75fg	0,85	0,17	1	5
4432	3,71defg	1,12	0,23	2	7
4437	6,33ab	2,24	0,46	2	10
4439	6,54ab	2,19	0,45	3	10
4443	7,67a	2,41	0,49	4	14
4444	5,17bcd	1,17	0,24	3	8
4445	4,25cde	1,59	0,33	1	7
4454	2,96efg	0,75	0,15	2	5
4455	6,46ab	2,04	0,42	3	12
4460	2,25g	0,44	0,09	2	3
4469	2,29g	0,75	0,15	1	4
4507	5,38bc	1,81	0,37	2	9
4509	4,04cdef	1,37	0,28	2	7
4522	5,42bc	1,53	0,31	3	9

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

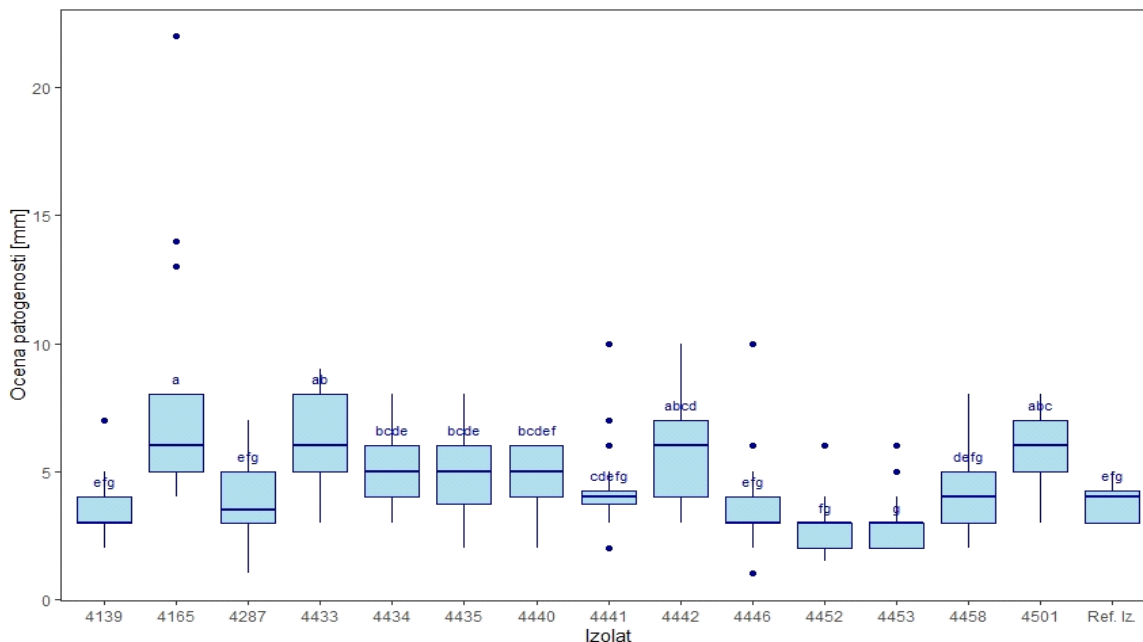


Grafikon 7. Boks plot sa rezultatima jednofaktorske analize varijanse za ocenu virulentnosti izolata vrste *F. proliferatum* na listovima ječma. Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$). Vertikalni bar označava standardnu grešku sredine.

Tabela 16. Parametri deskriptivne statistike za ocenu virulentnosti izolata vrste *F. subglutinans* na listu ječma.

Izolat	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. izolat	3,96efg	0,75	0,15	3	5
4139	3,46efg	1,1	0,23	2	7
4165	7,13a	4,07	0,83	4	22
4287	3,71efg	1,63	0,33	1	7
4433	6,25ab	1,65	0,34	3	9
4434	4,96bcde	1,37	0,28	3	8
4435	4,71bcde	1,49	0,3	2	8
4440	4,63bcdef	1,21	0,25	2	6
4441	4,33cdefg	1,63	0,33	2	10
4442	5,79abcd	1,79	0,37	3	10
4446	3,5efg	1,77	0,36	1	10
4452	2,98fg	1,17	0,24	1,5	6
4453	2,92g	1,14	0,23	2	6
4458	4,17defg	1,52	0,31	2	8
4501	5,96abc	1,3	0,27	3	8

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).



Grafikon 8. Boks plot sa rezultatima jednofaktorske analize varijanse za ocenu virulentnosti izolata gljive *F. subglutinans* na listovima ječma. Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$). Vertikalni bar označava standardnu grešku sredine.

4.5.2. Virulentnost izolata na klasu durum pšenice

Virulentnost svih 50 ispitivanih izolata vrsta *F. fujikuroi* kompleksa, kao i njihovih referentnih izolata, ispitana je metodom veštačke inokulacije klasa durum pšenice, sorte Cosmostar. Na inokulisanim klasovima došlo je do pojave simptoma u vidu obezbojavanja klasova (Slika 19). Svi klasovi u pozitivnoj kontroli su imali simptome karakteristične za fuzariozu klasa, dok su klasovi u negativnoj kontroli bili bez simptoma (Slika 20-a). Klasovi su ocenjeni ocenama od 1 do 7 (Slika 20-b).



Slika 19. Klasovi durum pšenice nakon veštačke inokulacije suspenzijom spora vrsta *F. fujikuroi* kompleksa.



Slika 20. Klasovi durum pšenice tri nedelje nakon veštačke inokulacije klasa: a- negativna kontrola (K-) i pozitivna kontrola (K+); b-skala od 1 do 7.

U uslovima veštačke inokulacije klasa, tokom prve godine ispitivanja (2018. godina) prosečna ocena virulentnosti izolata vrste *F. verticillioides* kretala se od 1 (izolati 4456 i 4462) do 2,5 (izolat 4467) (Tabela 17, Grafikon 9). Izolati vrste *F. proliferatum* imali su prosečne ocene virulentnosti od 1,15 (izolat 4171) do 2,75 (izolat 4439) (Tabela 18, Grafikon 10). Kod izolata vrste *F. subglutinans* prosečna ocena virulentnosti bila je u rasponu od 1,23 (4452) do 3 (4446) (Tabela 19, Grafikon 11).

Tokom druge godine ispitivanja virulentnosti izolata (2019. godina), prosečne ocene virulentnosti su više kod svake ispitivanje vrste (Grafikon 9, 10 i 11). Izolati vrste *F. verticillioides* imali su prosečne ocene virulentnosti od 4,15 (izolat 4449) do 6,35 (izolat 4291) (Tabela 17, Grafikon 9). Kod izolata vrste *F. proliferatum* prosečne ocene virulentnosti kretale su se od 4, kod izolata 4454, do 5,45, kod izolata 4437 (Tabela 18, Grafikon 10). Izolati vrste *F. subglutinans* imali su prosečne ocene koje su se kretale od 4,33 (izolat 4440) do 5,63 (4446) (Tabela 19, Grafikon 11).

Izolati vrste *F. verticillioides* 4456 i 4462 su tokom prve godine istraživanja imali najnižu prosečnu ocenu virulentnosti, a izolati 4467 i 4468 najvišu prosečnu ocenu virulentnosti. Ostali izolati ove vrste se statistički značajno ne razlikuju. Tokom druge godine istraživanja izolati 4456, 4462 i 4467 su imali najnižu prosečnu ocenu virulentnosti, a izolat 4291 imao je najvišu prosečnu ocenu virulentnosti. Ostali izolati nalaze se na istom nivou značajnosti.

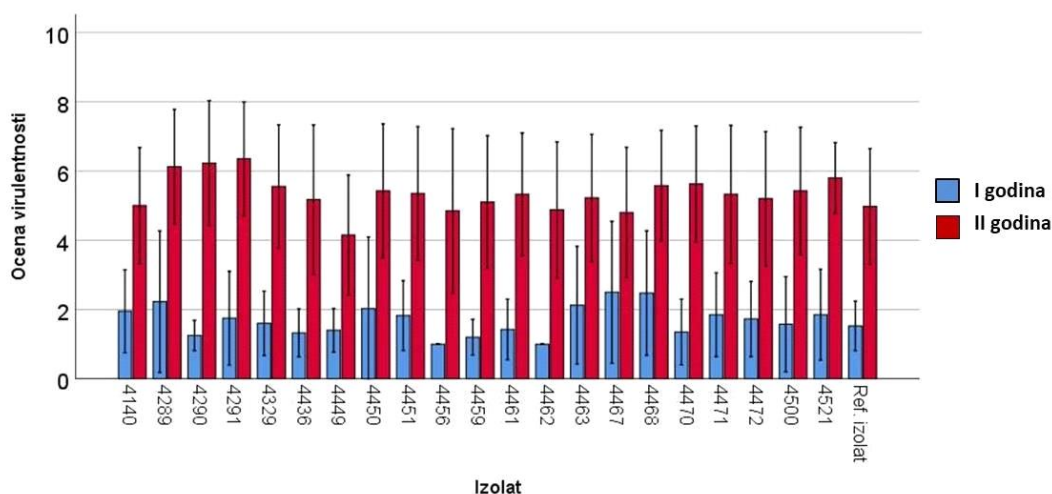
U prvoj godini istraživanja izdvajaju se dve grupe izolata vrste *F. proliferatum* koje se statistički značajno ne razlikuju. Prvu grupu izolata čine izolati 4432, 4437, 4439, 4522 i referentni izolat. Drugu grupu čine ostali izolati (4171, 4323, 4443, 4444, 4445, 4454, 4455, 4460, 4469, 4507 i 4509). Tokom druge godine istraživanja izdvajaju se izolati 4454, koji ima najnižu prosečnu ocenu virulentnosti, i 4437, koji ima najvišu prosečnu ocenu virulentnosti. Svi ostali izolati se statistički značajno ne razlikuju.

Tokom prve godine istraživanja kod izolata vrste *F. subglutinans* ističe se izolat 4446 koji ima najvišu prosečnu ocenu virulentnosti, dok su ostali izolati podeljeni u dve grupe. Jednu grupu čine izolati 4435, 4501 i referentni izolat, a svi ostali izolati čine drugu grupu. U drugoj godini istraživanja svi izolati se nalaze na istom nivou značajnosti.

Tabela 17. Parametri deskriptivne statistike za ocenu virulentnosti izolata gljive *F. verticillioides*, na klasu durum pšenice.

IZOLAT	I godina (2018)					II godina (2019)				
	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref.izolat	1,53abc	0,72	0,11	1	3	4,98cdef	1,67	0,26	1	7
4140	1,95bcd	1,2	0,19	1	6	5cdef	1,68	0,27	1	7
4289	2,23cde	2,04	0,32	1	7	6,13def	1,65	0,26	2	7
4290	1,25ab	0,44	0,07	1	2	6,23def	1,8	0,29	1	7
4291	1,75abcd	1,35	0,21	1	7	6,35f	1,64	0,26	1	7
4329	1,6abcd	0,93	0,15	1	5	5,55def	1,78	0,28	1	7
4436	1,33abc	0,69	0,11	1	4	5,18cdef	2,16	0,34	1	7
4449	1,4abc	0,63	0,1	1	4	4,15bc	1,73	0,27	2	7
4450	2,03bcd	2,07	0,33	1	7	5,43cdef	1,93	0,31	1	7
4451	1,83abcd	1,01	0,16	1	5	5,35cdef	1,93	0,3	1	7
4456	1a	0	0	1	1	4,85cde	2,37	0,37	1	7
4459	1,2ab	0,52	0,08	1	3	5,1cdef	1,92	0,3	1	7
4461	1,43abc	0,87	0,14	1	4	5,33cdef	1,77	0,28	2	7
4462	1a	0	0	1	1	4,88cde	1,96	0,31	1	7
4463	2,13bcde	1,7	0,27	1	7	5,23cdef	1,83	0,29	1	7
4467	2,5de	2,05	0,32	1	7	4,8cd	1,88	0,3	1	7
4468	2,48de	1,8	0,28	1	6	5,58def	1,6	0,25	1	7
4470	1,35abc	0,95	0,15	1	6	5,63def	1,67	0,26	1	7
4471	1,85abcd	1,21	0,19	1	7	5,33cdef	1,99	0,31	1	7
4472	1,73abcd	1,09	0,17	1	5	5,2cdef	1,94	0,31	1	7
4500	1,58abc	1,38	0,22	0	7	5,43cdef	1,84	0,29	1	7
4521	1,85abcd	1,31	0,21	1	7	5,8def	1,02	0,16	3	7

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

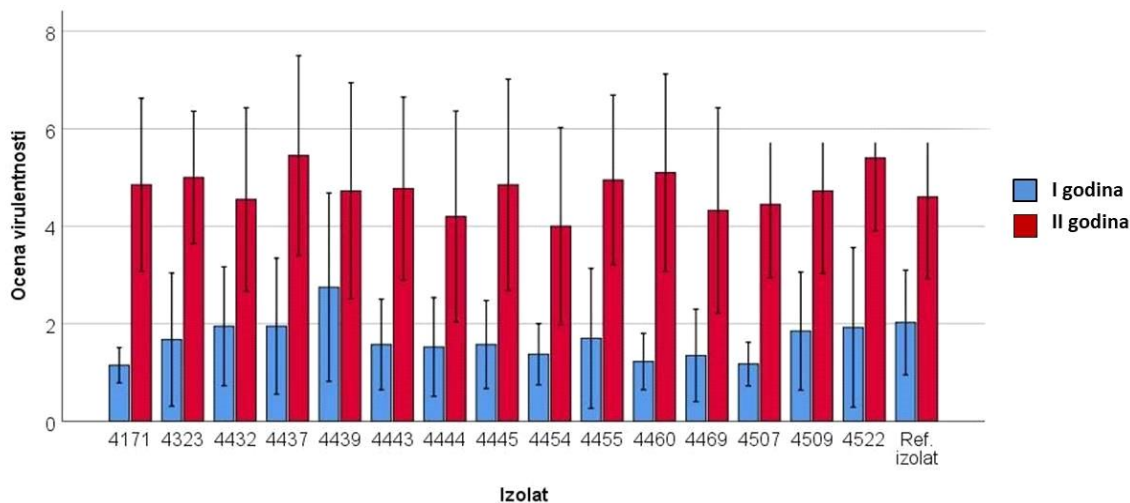


Grafikon 9. Ocena virulentnosti izolata vrste *F. verticillioides* na klasu durum pšenice tokom dvogodišnjih istraživanja. Vertikalni bar označava standardnu grešku sredine.

Tabela 18. Parametri deskriptivne statistike za ocenu virulentnosti izolata vrste *F. proliferatum* na klasu durum pšenice.

IZOLAT	I godina (2018)					II godina (2019)				
	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. izolat	2,03ab	1,07	0,17	1	6	4,6ab	1,68	0,27	1	7
4171	1,15a	0,36	0,06	1	2	4,85ab	1,78	0,28	1	7
4323	1,68a	1,37	0,22	1	7	5ab	1,36	0,21	1	7
4432	1,95ab	1,22	0,19	1	7	4,55ab	1,88	0,3	1	7
4437	1,95ab	1,4	0,22	1	7	5,45b	2,05	0,32	1	7
4439	2,75b	1,93	0,31	1	7	4,73ab	2,22	0,35	1	7
4443	1,58a	0,93	0,15	1	5	4,78ab	1,87	0,3	1	7
4444	1,53a	1,01	0,16	1	7	4,2ab	2,16	0,34	1	7
4445	1,58a	0,9	0,14	1	5	4,85ab	2,17	0,34	1	7
4454	1,38a	0,63	0,1	1	3	4a	2,03	0,32	1	7
4455	1,7a	1,44	0,23	1	7	4,95ab	1,74	0,27	1	7
4460	1,23a	0,58	0,09	1	3	5,1ab	2,02	0,32	1	7
4469	1,35a	0,95	0,15	1	6	4,33ab	2,1	0,33	1	7
4507	1,18a	0,45	0,07	1	3	4,45ab	1,5	0,24	2	7
4509	1,85a	1,21	0,19	1	7	4,73ab	1,69	0,27	2	7
4522	1,93ab	1,64	0,26	1	7	5,4ab	1,5	0,24	3	7

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

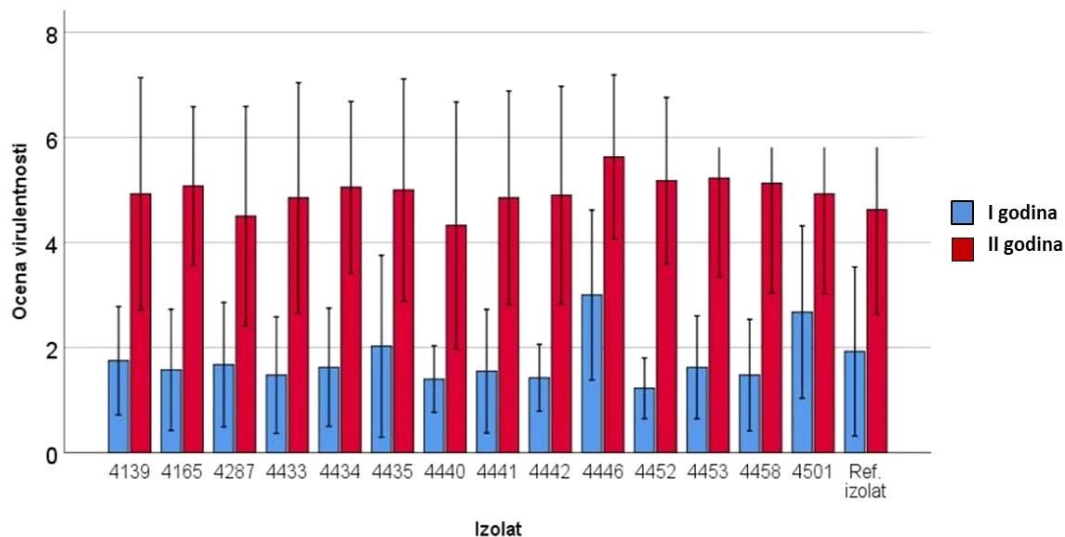


Grafikon 10. Ocena virulentnosti izolata vrste *F. proliferatum* na klasu durum pšenice tokom dvogodišnjih istraživanja. Vertikalni bar označava standardnu grešku sredine.

Tabela 19. Parametri deskriptivne statistike za ocenu virulentnosti vrste *F. subglutinans* na klasu durum pšenice.

IZOLAT	I godina (2018)					II godina (2019)				
	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.	Srednja vrednost	St. devijacija	St. greška	Min.	Maks.
Ref. izolat	1,93ab	1,61	0,25	1	7	4,63a	1,98	0,31	1	7
4139	1,75a	1,03	0,16	1	7	4,93a	2,21	0,35	1	7
4165	1,58a	1,15	0,18	1	7	5,08a	1,51	0,24	2	7
4287	1,68a	1,19	0,19	1	7	4,5a	2,09	0,33	1	7
4433	1,48a	1,11	0,18	1	7	4,85a	2,19	0,35	1	7
4434	1,63a	1,13	0,18	1	7	5,05a	1,63	0,26	1	7
4435	2,03ab	1,73	0,27	1	7	5a	2,11	0,33	1	7
4440	1,4a	0,63	0,1	1	4	4,33a	2,35	0,37	1	7
4441	1,55a	1,18	0,19	1	7	4,85a	2,03	0,32	1	7
4442	1,43a	0,64	0,1	1	3	4,9a	2,07	0,33	1	7
4446	3c	1,62	0,26	1	7	5,63a	1,56	0,25	1	7
4452	1,23a	0,58	0,09	1	4	5,18a	1,58	0,25	2	7
4453	1,63a	0,98	0,15	1	5	5,23a	1,87	0,3	2	7
4458	1,48a	1,06	0,17	1	7	5,13a	2,09	0,33	1	7
4501	2,68bc	1,64	0,26	1	7	4,93a	1,9	0,3	2	7

Legenda: Izolati koji ne dele isto slovo se statistički značajno razlikuju na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).



Grafikon 11. Ocena virulentnosti izolata vrste *F. subglutinans* na klasu durum pšenice tokom dvogodišnjih istraživanja. Vertikalni bar označava standardnu grešku sredine.

Primenom trofaktorske analize varijanse po delimično hijerarhijskom planu, pokazano je da postoji značajna razlika između dve godine istraživanja i to na način da su u drugoj godini svi izolati bili virulentniji. Što se tiče uticaja vrste gljive na virulentnost, pokazano je da je vrsta *F. verticillioides* virulentnija u odnosu na vrste *F. proliferatum* i *F. subglutinans* koje su jednako virulentne (ovaj zaključak važi za obe godine) (Tabela 20).

Tabela 20. Parametri deskriptivne statistike za prosečnu ocenu virulentnosti na klasu durum pšenice za sve tri vrste gljiva tokom dve godine ispitivanja.

Vrsta gljive	Statistika	Godina	
		I godina	II godina
<i>F. subglutinans</i>	Srednja vrednost	1,76Aa	4,95Ab
	Standardna devijacija	1,28	1,96
	Standardna greška	0,05	0,08
	Minimum	1	1
	Maksimum	7	7
<i>F. proliferatum</i>	Srednja vrednost	1,67Aa	4,75Ab
	Standardna devijacija	1,2	1,89
	Standardna greška	0,05	0,07
	Minimum	1	1
	Maksimum	7	7
<i>F. verticillioides</i>	Srednja vrednost	1,93Ba	5,08Bb
	Standardna devijacija	1,54	1,96
	Standardna greška	0,05	0,07
	Minimum	1	1
	Maksimum	7	7

Legenda: Velika latinična slova su korišćena za označavanje razlika između vrsta gljiva, a mala za označavanje razlika između dve godine na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

4.5.3. Virulentnost izolata na klasu pšenice, ječma i tritikalea

Virulentnost odabranih izolata vrsta *F. fujikuroi* kompleksa je ispitana na klasu pšenice (sorta Aurelia), ječma (sorta Nektar) i tritikalea (sorta Zenit). Za potrebe ovih analiza odabrano je šest izolata vrste *F. verticillioides* (4290, 4329, 4451, 4468, 4472 i 4500), pet izolata vrste *F. proliferatum* (4171, 4443, 4444, 4509 i 4507) i četiri izolata vrste *F. subglutinans* (4165, 4440, 4446 i 4501), ukupno 15, kao i tri referentna izolata (RBG 1603 Q27, RBG 1613 Q15 i RBG 3591 Q23). Izolati su poreklom sa pšenice, ječma i tritikalea.

Ocena virulentnosti izolata urađena je na osnovu skale **Blandino et al. (2012)** na klasu pšenice (Slika 21), ječma (Slika 22) i tritikalea (Slika 23).



Slika 21. Klasovi pšenice tri nedelje nakon veštačke inokulacije ocenjeni prema skali od 1 do 7.



Slika 22. Klasovi ječma tri nedelje nakon veštačke inokulacije ocenjeni prema skali od 1 do 7.



Slika 23. Klasovi tritikalea tri nedelje nakon veštačke inokulacije ocenjeni prema skali od 1 do 7.

Primenom trofaktorske analize varijanse po delimično hijerarhijskom planu, pokazano je da na virulentnost deluje samo biljna vrsta. Rezultati ovih testiranja prikazani su u Tabeli 21. *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans* ispoljile su najveću virulentnost na klasu pšenice, a najmanju na klasu ječma.

Tabela 21. Parametri deskriptivne statistike za ocenu virulentnosti po vrsti gljive, za tri biljne vrste.

Vrsta gljive	Statistika	Biljna vrsta		
		Ječam	Pšenica	Tritikale
<i>F. proliferatum</i>	Sr. vrednost	2,72Aa	3,49Ab	3,25Ac
	St. devijacija	2,29	1,43	1,13
	St. greška	0,21	0,13	0,1
	Minimum	1	1	2
	Maksimum	7	7	6
<i>F. subglutinans</i>	Sr. vrednost	2,82Aa	3,72Ab	3,25Ac
	St. devijacija	2,28	1,26	1,17
	St. greška	0,23	0,13	0,12
	Minimum	1	1	2
	Maksimum	7	6	6
<i>F. verticillioides</i>	Sr. vrednost	3,08Aa	3,39Ab	3,09Ac
	St. devijacija	2,27	1,4	1,36
	St. greška	0,19	0,12	0,11
	Minimum	1	1	0
	Maksimum	7	7	6

Legenda: Velika latinična slova su korišćena za označavanje razlika između vrsta gljiva, a mala za označavanje razlika između biljne vrste na osnovu Tuckey testa ($p < 0,05$).

Prosečna ocena virulentnosti izolata vrste *F. verticillioides* na klasu pšenice kretala se u rasponu od 2,95 (izolat 4290) do 3,70 (izolat 4500). Indeks oboljenja na klasu pšenice bio je od 41,12% do 49,44%. Na klasu ječma prosečna ocena je bila od 2,10 (izolat 4468) do 3,75 (izolat 4500 i referentni izolat). Indeks oboljenja na klasu ove biljne vrste bio je od 22,64% do 39,72%. Prosečna ocena virulentnosti na klasu tritikalea bila je od 2,15 (izolat 4472) do 3,60 (izolat 4451) (Tabela 22). Indeks oboljenja kretao se u rasponu od 29,57% do 48,24%.

Izolati vrste *F. proliferatum* na klasu pšenice imali su prosečnu ocenu od 3,10 (izolat 4509) do 3,75 (izolat 4444). Indeks oboljenja kretao se u rasponu od 35,45% do 46,16%. Na klasu ječma izolati ove vrste imali su prosečnu ocenu virulentnosti od 2,30 (izolat 4171) do 3,20 (referentni izolat). Indeks oboljenja kretao se u rasponu od 22,41% do 28,41%. Prosečna ocena virulentnosti na klasu tritikelea bila je u rasponu od 2,80 (izolat 4444) do 3,85 (izolat 4507) (Tabela 23). Indeks oboljenja bio je u rasponu od 37,37% do 48,75%.

Najviša prosečna ocena virulentnosti izolata vrste *F. subglutinans* zabeležena je na klasu pšenice i kretala se od 3,50 (izolati 4165 i 4501) do 3,90 (izolat 4446). Indeks oboljenja bio je u rasponu od 42,91% do 47,66%. Najniža prosečna ocena virulentnosti izolata ove vrste zabeležena je na klasu ječma i kretala se od 2,05 (izolat 4446) do 3,15 (izolati 4165 i 4501). Indeks oboljenja kretao se u rasponu od 22,74% do 37,61%. Prosečna ocena virulentnosti na klasu tritikalea bila je od 3,05 (referentni izolat) do 3,50 (izolat 4501) (Tabela 24). Indeks oboljenja na ovoj biljnoj vrsti bio je u rasponu od 37,66% do 46,56%.

Tabela 22. Parametri deskriptivne statistike za ocenu virulentnosti izolata vrste *F. verticillioides*, po izolatimana klasu ječma, pšenice i tritikalea.

Izolat	Statistika	Biljna vrsta		
		Ječam	Pšenica	Tritikale
4290	Sr. vrednost	2,65	2,95	3,1
	St. devijacija	2,32	1,23	1,29
	St. greška	0,52	0,28	0,29
	Minimum	1	1	1
	Maksimum	7	5	6
4329	Sr. vrednost	3,5	3,35	3,2
	St. devijacija	2,35	1,39	1,32
	St. greška	0,53	0,31	0,3
	Minimum	1	1	2
	Maksimum	7	6	6
4451	Sr. vrednost	2,55	3,25	3,6
	St. devijacija	2,01	1,52	1,47
	St. greška	0,45	0,34	0,33
	Minimum	1	1	2
	Maksimum	7	6	6
4468	Sr. vrednost	2,1	3,45	3,1
	St. devijacija	2,05	1,47	1,37
	St. greška	0,46	0,33	0,31
	Minimum	1	1	1
	Maksimum	7	6	5
4472	Sr. vrednost	3,25	3,60	2,15
	St. devijacija	2,05	1,43	1,23
	St. greška	0,46	0,32	0,27
	Minimum	1	2	0
	Maksimum	7	7	6
4500	Sr. vrednost	3,75	3,7	3,2
	St. devijacija	2,4	1,42	1,28
	St. greška	0,54	0,32	0,29
	Minimum	1	2	2
	Maksimum	7	7	6
Ref. Izolat RBG 1603 Q27	Sr. vrednost	3,75	3,4	3,25
	St. devijacija	2,4	1,39	1,29
	St. greška	0,54	0,31	0,29
	Minimum	1	1	2
	Maksimum	7	6	6

Tabela 23. Parametri deskriptivne statistike za ocenu virulentnosti izolata vrste *F. proliferatum*, po izolatomana klasu ječma, pšenice i tritikalea.

Izolat	Statistika	Biljna vrsta		
		Ječam	Pšenica	Tritikale
4171	Sr. vrednost	2,3	3,55	3,9
	St. devijacija	1,81	1,64	0,97
	St. greška	0,4	0,37	0,22
	Minimum	1	1	2
	Maksimum	7	7	6
4443	Sr. vrednost	2,55	3,45	3
	St. devijacija	2,31	1,67	1,03
	St. greška	0,52	0,37	0,23
	Minimum	1	1	2
	Maksimum	7	7	5
4444	Sr. vrednost	2,75	3,75	2,8
	St. devijacija	2,47	1,33	0,83
	St. greška	0,55	0,3	0,19
	Minimum	1	2	2
	Maksimum	7	6	5
4507	Sr. vrednost	3,15	3,75	3,85
	St. devijacija	2,68	1,37	1,31
	St. greška	0,6	0,31	0,29
	Minimum	1	1	2
	Maksimum	7	6	6
4509	Sr. vrednost	2,35	3,1	2,85
	St. devijacija	2,13	1,25	1,04
	St. greška	0,48	0,28	0,23
	Minimum	1	1	2
	Maksimum	7	6	5
Ref. Izolat RBG 1613 Q15	Sr. vrednost	3,2	3,35	3,1
	St. devijacija	2,38	1,35	1,12
	St. greška	0,53	0,3	0,25
	Minimum	1	1	2
	Maksimum	7	6	5

Tabela 24. Parametri deskriptivne statistike za ocenu virulentnosti izolata vrste *F. subglutinans*, po izolatomana klasu ječma, pšenice i tritikalea.

Izolat	Statistika	Biljna vrsta		
		Ječam	Pšenica	Tritikale
4165	Sr. vrednost	3,15	3,9	3,15
	St. devijacija	2,28	1,29	1,14
	St. greška	0,51	0,29	0,25
	Minimum	1	2	2
	Maksimum	7	6	6
4440	Sr. vrednost	2,75	3,75	3,1
	St. devijacija	2,27	1,16	0,85
	St. greška	0,51	0,26	0,19
	Minimum	1	2	2
	Maksimum	7	6	5
4446	Sr. vrednost	2,05	3,5	3,45
	St. devijacija	1,7	1,32	1,23
	St. greška	0,38	0,29	0,28
	Minimum	1	2	2
	Maksimum	7	6	6
4501	Sr. vrednost	3,15	3,9	3,5
	St. devijacija	2,64	1,29	1,4
	St. greška	0,59	0,29	0,31
	Minimum	1	2	2
	Maksimum	7	6	6
Ref. Izolat RBG 3591 Q23	Sr. vrednost	3	3,55	3,05
	St. devijacija	2,45	1,32	1,19
	St. greška	0,55	0,29	0,27
	Minimum	1	1	2
	Maksimum	7	6	6

4.6. Toksikološke karakteristike izolata

Potencijal sinteze fumonizina izolata vrsta *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans* određen je ELISA testom. Analiza je obavljena iz micelije svih 50 izolata.

Rezultati kvantitativne analize potencijala sinteze fumonizina ELISA metodom ukazali su na prisustvo fumonizina u svim izolatima vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum*, dok je prisustvo fumonizina zabeleženo samo u nekim izolatima vrste *F. subglutinans* (4165, 4287, 4453 i 4501). Najviše koncentracije fumonizina zabeležene su kod izolata vrste *F. proliferatum* gde je devet izolata (4437, 4443, 4444, 4454, 4455, 4469, 4507, 4509 i 4522) imalo vrednosti više od gornjeg praga detekcije, a pet izolata (4171, 4323, 4432, 4439 i 4445) je sintetisalo fumonizine u visini petog standarda (60 µg/g). Veliki broj izolata vrste *F. verticillioides* (4170, 4291, 4329, 4436, 4450, 4451, 4456, 4462, 4463, 4468, 4471 i

4521) imao je sposobnost sinteze fumonizina iznad praga detekcije upotrebljenog kita (60 µg/g), zbog čega nije moguće precizno utvrditi prosečnu sintezu ovog toksina (Tabela 25).

Tabela 25. Rezultati kvantitativne analize potencijala sinteze fumonizina iz micelije izolata vrsta *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans*.

<i>F. verticillioides</i>		<i>F. proliferatum</i>		<i>F. subglutinans</i>	
Izolat	FUM (µg/g)	Izolat	FUM (µg/g)	Izolat	FUM (µg/g)
4140	>60	4171	60	4139	0
4289	27,97	4323	60	4165	0,07
4290	53,58	4432	60	4287	1,39
4291	>60	4437	>60	4433	0
4329	>60	4439	60	4434	0
4436	>60	4443	>60	4435	0
4449	52,25	4444	>60	4440	0
4450	>60	4445	60	4441	0
4451	>60	4454	>60	4442	0
4456	>60	4455	>60	4446	0
4459	51,32	4460	52,53	4452	0
4461	23,26	4469	>60	4453	1,26
4462	>60	4507	>60	4458	0
4463	>60	4509	>60	4501	1,97
4467	45,14	4522	>60		
4468	>60				
4470	44,39				
4471	>60				
4472	55,02				
4500	58,81				
4521	>60				

5. Diskusija

Vrste koje pripadaju *F. fujikuroi* kompleksu su ekonomski značajni prouzrokovajući fuzarioza strnih žita. Ove vrste su kosmopolitski rasprostranjene i toksigene zbog čega postoje brojna istraživanja koja se bave proučavanjem predstavnika ovog kompleksa (**Sandoval-Denis et al. 2018a, 2018b; Al-Hatmi et al., 2019; Yilmaz et al., 2021**). Najznačajnije vrste *F. fujikuroi* kompleksa su *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans*. Primarni domaćin ovih vrsta je kukuruz na kome izazivaju plesnivost klipa (**Leslie and Summerell, 2006**), ali njihovo prisustvo je zabeleženo i na strnim žitima. U svetu, ove vrste su opisane na pšenici (**Ramirez et al., 2006; Desjardins et al., 2007**), durum pšenici (**Palacios et al., 2011; Amato et al., 2015; Gorczyca et al., 2017**) i ječmu (**Ivić et al., 2011; Piacentini et al., 2015**). U Srbiji, njihovo prisustvo je zabeleženo na pšenici (**Dopuđa i Lević, 2004; Stanković et al., 2007; Krnjaja et al., 2008; Tančić i sar., 2009; Krnjaja et al., 2011a, 2011b; Lević et al., 2012b; Savić et al., 2021**), ječmu (**Lević et al., 2009; Lević et al., 2012a**) i durum pšenici (**Savić et al., 2020**).

U toku četvorogodišnjeg istraživanja, od 2014. do 2017. godine utvrđena je pojava fuzarioza na zrnju strnih žita (pšenice, durum pšenice, ječma i tritikalea) u Srbiji prouzrokovana vrstama *F. fujikuroi* kompleksa. Najčešće izolovana vrsta na strnim žitima bila je *F. verticillioides* (47% izolata), a zatim *F. proliferatum* (31% izolata) i *F. subglutinans* (22% izolata). Prisustvo sve tri vrste je potvrđeno na zrnju pšenice, ječma, durum pšenice i tritikalea.

Na zrnju pšenice najzastupljenija vrsta ovog kompleksa bila je vrsta *F. verticillioides* čije je prisustvo zabeleženo u 52% izolata, zatim slede vrste *F. proliferatum* (30% izolata) i *F. subglutinans* (18% izolata).

U Srbiji, **Dopuđa i Lević (2004)** su ispitivali prisustvo gljiva na zrnju pšenice tokom 2002. i 2003. godine. Vrsta *F. verticillioides* zabeležena je u 10% ispitivanih uzoraka dok prisustvo ostalih vrsta *F. fujikuroi* kompleksa nije zabeleženo tokom 2002. godine. U uzorcima sakupljenim tokom 2003. godine, iz zrna pšenice izolovana je samo vrsta *F. proliferatum* (5% analiziranih uzoraka). U dvogodišnjim istraživanjima koje su sprovedili **Stanković et al. (2007)**, 2005. godine vrsta *F. verticillioides* bila je najzastupljenija na zrnju pšenice (7% izolata), zatim vrste *F. subglutinans* (4,4% izolata) i *F. proliferatum* (3,4% izolata), dok je 2006. godine najzastupljenija bila vrsta *F. proliferatum* (20% izolata), zatim *F. subglutinans* (2,5% izolata) i *F. verticillioides* (0,8% izolata). U istom periodu **Tančić i sar. (2009)** u svojim istraživanjima na zrnju pšenice nisu zabeležili prisustvo vrste *F. subglutinans*, dok su vrste *F. verticillioides* i *F. proliferatum* bile jednako zastupljene 2005. godine (22% analiziranih uzoraka), dok je 2006. godine vrsta *F. proliferatum* bila zastupljenija (22% analiziranih uzoraka) od vrste *F. verticillioides* (14% analiziranih uzoraka). Vrsta *F. proliferatum* bila je zastupljenija u većem procentu (5,7% izolata) 2007. godine, zatim vrsta *F. subglutinans* (3,5% izolata) dok je vrsta *F. verticillioides* (1,7% izolata) bila najmanje zastupljena (**Krnjaja et al., 2008**). U istraživanjima sprovedenim 2009. godine na zrnju pšenice, vrste *F. proliferatum* i *F. subglutinans* bile su podjednako zastupljene (4,17% ispitivanih uzoraka) dok je vrsta *F. verticillioides* bila zabeležena u manjem procentu (0,83% ispitivanih uzoraka) od druge dve vrste (**Krnjaja et al., 2011a**). Istraživanja iz 2010. godine su pokazala sporadičnu pojavu ovih vrsta na zrnju pšenice (ispod 1% od ispitanih uzoraka) (**Krnjaja et al., 2011b**). Naredna istraživanja koja su

sproveli **Lević et al. (2012b)** pokazala su da je vrsta *F. verticillioides* bila zastupljena u većem procentu (19,4% izolata) od druge dve vrste (9,7% izolata).

Ćosić et al. (2007) su prisustvo vrste *F. verticillioides*, takođe utvrdili u većem procentu (17,56% izolata) nego prisustvo vrste *F. subglutinans* (11,62% izolata) na zrnu pšenice poreklom iz Hrvatske. Međutim, **Zidan et al. (2020)** su na zrnu pšenice gajenoj u Siriji uočili veću zastupljenost vrste *F. proliferatum* (76% ispitivanih izolata) u odnosu na vrstu *F. verticillioides* koja je zabeležena u 15% izolata. Slično njihovim rezultatima, **Mohammadi et al. (2016)** su u Iranu iz zrna pšenice izolovali vrstu *F. proliferatum* u većem procentu (23,6% uzoraka) od vrste *F. verticillioides* (14,5% uzoraka).

Na zrnu ječma sve tri vrste su bile jednako zastupljene. U istraživanjima koje su u Srbiji sproveli **Lević et al. (2009)** u periodu od 2004. do 2007. zastupljenost vrsta *F. verticillioides* i *F. subglutinans* bila je ista (3,45% izolata), dok je vrsta *F. proliferatum* bila zastupljena u većem procentu (13,8% izolata). Prisustvo vrste *F. verticillioides* u visokom procentu (55,6% izolata) zabeležena je na zrnu ječma 2011. godine, dok je vrsta *F. proliferatum* imala je srednju učestalost (28,9% izolata), a vrsta *F. subglutinans* nižu učestalost (14,3% izolata) (**Lević et al., 2012a**).

Do istog zaključka došli su i **Piacentini al. (2019)** u istraživanjima koje su sproveli u Brazilu gde su vrste *F. verticillioides* i *F. proliferatum* bile podjednako zastupljene na zrnu ječma. Autori **Ćosić et al. (2007)** su na zrnu ječma prisustvo vrste *F. verticillioides* zabeležili u većem procentu (18,33% izolata) od vrste *F. subglutinans* (15,57% izolata).

Na zrnu durum pšenice vrste *F. verticillioides* i *F. proliferatum* su imale sličnu zastupljenost, dok je vrsta *F. subglutinans* imala manju zastupljenost. Vrsta *F. verticillioides* bila je zastupljena u 36% izolata, vrsta *F. proliferatum* u 35% izolata, a vrsta *F. subglutinans* u 18% izolata. U Srbiji nema podataka o prisustvu vrsta *F. fujikuroi* kompleksa na zrnu durum pšenice. Za razliku od rezultata iz ove doktorske disertacije, **Palacios et al. (2011)** su na zrnu durum pšenice zabeležili veću zastupljenost vrste *F. proliferatum* (72% izolata) u odnosu na vrstu *F. verticillioides* (24% izolata). **Amato et al. (2015)** su sproveli istraživanja u Italiji gde su iz zrna durum pšenice izolovali samo vrstu *F. proliferatum* dok prisustvo druge dve vrste *F. fujikuroi* kompleksa nije zabeleženo.

Na zrnu tritikalea vrsta *F. verticillioides* bila je zastupljena u većem procentu (42% izolata) od druge dve vrste ovog kompleksa. U Srbiji, i u svetu nema podataka o prisustvu vrsta *F. fujikuroi* kompleksa na zrnu tritikalea. U okviru ove doktorske disertacije po prvi put identifikovana je vrsta *F. verticillioides* na zrnu tritikalea (**Savić et al., 2022**), kao i vrste *F. proliferatum* i *F. subglutinans*. Doprinos disertacije je i u tome što je u okviru istraživanja sprovedenih tokom njene izrade zabeleženo prisustvo sve tri vrste ovog kompleksa na zrnu durum pšenice, o čemu do sada u Srbiji nema podataka.

Rezultati višegodišnjih istraživanja sprovedenih u Srbiji koja su zasnovana na praćenju pojave i učestalosti vrsta *F. fujikuroi* kompleksa pokazala su da pojava i učestalost ovih vrsta varira svake godine. Sve tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa su toksigene i sintetišu više različitih mikotoksina u različitim koncentracijama, pa je identifikacija ovih vrsta od posebnog značaja zbog njihovog toksikološkog profila. Samim tim, u zavisnosti od pojave određene vrste gljive zavisi i opasnost od kontaminacije biljke mikotoksinima koje ta gljiva sintetiše. Praćenje pojave ovih vrsta, kao i njihove učestalosti na raznim biljnim vrstama je značajno sa stanovišta proizvodnje zdravstveno bezbedne hrane.

5.1. Molekularna identifikacija i karakterizacija vrsta *Fusarium fujikuroi* kompleksa

U detekciji izolata vrsta *F. fujikuroi* kompleksa korišćeni su specifični prajmeri za detekciju *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans* zasnovani na *gaoB* genu i delu gena za kalmodulin (Mulè et al., 2004; Faria et al., 2012). Korišćenje specifičnih prajmera pokazalo se pogodnim za detekciju i razdvajanje vrsta *F. fujikuroi* kompleksa (Magculia and Cumagun, 2011; Najihah et al., 2017; De Sousa et al., 2022; Pramunadipta et al., 2022). Prajmeri specifični za vrstu *F. subglutinans* autora Mulè et al. (2004) i Faria et al. (2012) su amplifikovali sve izolate preliminarno identifikovane na osnovu morfoloških karakteristika kao *F. subglutinans*. Prajmeri specifični za vrstu *F. verticillioides* autora Mulè et al. (2004) i Faria et al. (2012) su amplifikovali 15 od 17 izolata preliminarno morfološki identifikovanih kao *F. verticillioides*. Dva izolata su na osnovu tri genska lokusa identifikovani kao vrsta *F. proliferatum*. Prajmeri specifični za vrstu *F. proliferatum* autora Mulè et al. (2004) i Faria et al. (2012) su amplifikovali šest od 11 izolata preliminarno morfološki identifikovanih kao *F. proliferatum*. Ostalih pet izolata u kojima se nisu amplifikovali fragmenti ni sa jednim od specifičnih prajmera identifikovani su na osnovu tri genska lokusa kao *F. proliferatum*.

Poređenjem rezultata dobijenih primenom specifičnih prajmera, preliminarne morfološke identifikacije i identifikacije zasnovane na osnovu taksonomski značajnim genskim lokusima potvrđena je specifičnost korišćenih prajmera. Iako kod nekih izolata odgovarajuće vrste nije došlo do amplifikacije, nespecifičnih reakcija nije bilo sa izolatima drugih vrsta. Slične rezultate navode i drugi autori (Patiño et al., 2004; Jurado et al., 2006; Dissanayake et al., 2009; Visentin et al., 2009).

Identifikacija vrsta *F. fujikuroi* kompleksa se zbog velike varijabilnosti zasniva na polifaznom pristupu koji pored morfoloških karakteristika obuhvata i molekularne karakteristike i filogenetsku analizu (Yilmaz et al., 2021). Identifikacija odabranih izolata vrsta *F. fujikuroi* kompleksa iz strnih žita obuhvatila je analizu tri genska regiona (ITS, TEF 1- α i RPB2) koji omogućavaju pouzdanu identifikaciju u okviru ovog kompleksa (Crous et al., 2021; Yilmaz et al., 2021).

Međusobnim poređenjem dobijenih sekvenci izolata vrste *F. subglutinans* na osnovu sva tri regiona nije uočena varijabilnost. Visoko izraženu sličnost kod izolata ove vrste uočili su i Jabłońska et al. (2020). Sekvence izolata vrste *F. verticillioides* su bile identične na osnovu ITS i RPB2 regiona dok su na osnovu TEF 1- α imale 99-100% genetičku sličnost. Isto su uočili i Leslie et al. (2004), Leslie et al. (2005), Reynoso et al. (2009), kao i Saharan (2010). Za razliku od ovih autora, Jabłońska et al. (2020) uočili su genetičku varijabilnost kod izolata ove vrste. Kod izolata vrste *F. proliferatum* genetička sličnost na osnovu analize ITS i TEF 1- α regiona bila je izražena u visokom procentu dok je RPB2 region bio genetički varijabilan. Anisimova et al. (2021) takođe su zabeležili visoku genetičku sličnost (98-99,8%) kod izolata vrste *F. proliferatum* na osnovu sva tri regiona.

Na osnovu sprovedenih filogenetskih analiza i konstruisanja filogenetskog stabla uočeno je da je region TEF 1- α jasno je razdvojio sve tri vrste, što je u skladu sa podacima Crous et al. (2021) koji ovaj region navode kao primarni barkod marker za identifikaciju vrsta ovog kompleksa. Region TEF 1- α uspešno je korišćen za identifikaciju vrsta *F. fujikuroi* kompleksa u brojnim istraživanjima (Amatulli et al., 2012; Zainudin et al., 2017; Jiang et al., 2020). Na osnovu ITS regiona nije bilo moguće razdvojiti vrste *F.*

verticillioides i *F. subglutinans*. Slične rezultate dobili su i **O'Donnell et al. (2000)** kod kojih takođe nije uočena varijabilnost između ove dve vrste. Kao sekundarni barkod marker **Crous et al. (2021)** navode RPB2 region. Na osnovu ovog regiona izolati vrsta *F. verticillioides* i *F. subglutinans* korišćeni u ovoj doktorskoj disertaciji uspešno su razdvojeni, što na osnovu ITS regiona nije bilo moguće, dok je u okviru vrste *F. proliferatum* uočena varijabilnost. Ovaj region, kao i ITS region, nije dovoljan da se samostalno koristi za uspešnu identifikaciju vrsta *F. fujikuroi* kompleksa, što je u skladu sa istraživanjima **Moussa et al. (2017)**. **Thomas et al. (2019)** u svojim istraživanjima su takođe zaključili da RPB2 region ima manju moć razdvajanja i manje je pouzdan za identifikaciju vrsta *F. fujikuroi* kompleksa, kao i **Pfordt et al. (2020)** koji na osnovu regiona RPB2 nisu mogli uspešno da razdvoje vrste *F. verticillioides* i *F. proliferatum*.

Na osnovu molekularnih analiza potvrđeno je da su prouzrokovaci fuzarioza zrna strnih žita u Srbiji vrste *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans*. Takođe, uočeno je da su izolati *F. proliferatum* ispoljili najveću genetičku varijabilnost (TEF 1- α i RPB2) ali i najveću morfološku varijabilnost preklapajući se u karakteristikama načina formiranja mikrokonidija sa vrstom *F. verticillioides*.

5.2. Morfološke karakteristike vrsta *Fusarium fujikuroi* kompleksa

Na osnovu makroskopskih karakteristika (boja i izgled micelije, pigmentacija podloge) nije uočena značajna varijabilnost između vrsta *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans*. Na osnovu ovih karakteristika nije moguće da se ove vrste pouzdano razlikuju na KDA podlozi. Brojni autori, takođe, navode da je na osnovu makroskopskih karakteristika teško identifikovati vrste *F. fujikuroi* kompleksa (**Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006**). Varijabilnost u pogledu ovih karakteristika je uočena između izolata u okviru svake vrste. Razlike u izgledu kolonije uočili su i **Hirata et al. (2001)** i **Pascual et al. (2016)**.

Pojedini izolati vrste *F. verticillioides* formirali su belu miceliju sa tamnocrvenim i ljubičastim pigmentom u podlozi što kao što su uočili u svojim istraživanjima **Chehri et al. (2010)**, **Pascual et al. (2016)**, **Zidan et al. (2020)** i **Widiastuti et al. (2020)**. Jedna grupa izolata formirala je belu miceliju vunaste strukture sa ružičastom nijansom i žućkastom pigmentacijom prošaranom ljubičastom bojom što je uočeno u rezultatima istraživanja **Hirata et al. (2001)**. Izolati vrste *F. proliferatum* na KDA podlozi obrazovali su beličastu do mrkožutu vazdušnu miceliju, sa žućkastim, ljubičastim ili purpurnim pigmentom kako je opisano u literaturi (**Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Lević, 2008; Crous et al., 2021; Yilmaz et al., 2021**). Izolati vrste *F. subglutinans* formirali su belu bujnu miceliju dok su drugi izolati formirali retku, oskudnu miceliju kako je opisano u drugim literaturnim podacima (**Samson et al., 2004; Shin et al., 2014; Han et al., 2015**). Pigmentacija podloge je takođe varirala od žućkastog do ljubičastog pigmenta. Slične rezultate zabeležili su **Leslie and Summerell (2006)**, kao i **Ristić et al. (2015)**.

Rezultati analiza u okviru ove doktorske disertacije pokazali su da nema statistički značajne razlike srednjih vrednosti dnevnog porasta između ove tri vrste. Za razliku od ovih rezultata, **Saleh et al. (2021)** ispitujući vrste *F. verticillioides* i *F. proliferatum* uočili su da postoji značajna razlika u porastu ove dve vrste. **Glenn et al. (2001)** su takođe uočili razliku u porastu između vrsta *F. fujikuroi* kompleksa, gde je vrsta *F. verticillioides* imala najveći porast, dok je vrsta *F. proliferatum* imala najmanji porast.

Prečnik kolonije kod ispitivanih izolata vrste *F. verticillioides* nakon sedam dana gajenja pri 25°C mraku iznosio je 75 mm. Isti prečnik zabeležili su i **Chandra Nayaka et al. (2008)**. Veći prečnik kolonije (80-90 mm) u istraživanjima zabeležili su **Yadav et al. (2022)** nakon sedam dana gajenja pri 25°C mraku, kao i **Maciel et al. (2017)**. Slične rezultate imali su i **Samapundo et al. (2005)**. Autori **Hirata et al. (2001)** i **Zidan et al. (2020)** su nakon tri dana porasta izmerili prečnik kolonije 30-35 mm, što je više od prečnika kolonije izmerenih u ovoj doktorskoj disertaciji, gde je nakon tri dana porast kolonije bio 28 mm. Izolati vrste *F. proliferatum* na KDA podlozi nakon sedam dana gajenja pri 25°C u mraku obrazovali su prečnik kolonije 75,13 mm. Pri istim uslovima gajenja **Yilmaz et al. (2021)** i **Yadav et al. (2022)** izmerili su manji prečnik kolonije (69-71 mm). **Samapundo et al. (2005)**, kao i prethodni autori, izmerili su prečnik kolonije manji nego u rezultatima iz ove doktorske disertacije (70 mm). Izolati vrste *F. subglutinans* formirali su kolonije prečnika 76 mm nakon sedam dana gajenja pri temperaturi 25°C u mraku, kao što su uočili i **Leslie and Summerell (2006)**. **Shin et al. (2014)** su nakon četiri dana gajenja pri istim uslovima izmerili porast kolonije od 44 do 48 mm, a **Samson et al. (2004)** i **Han et al. (2015)** su izmerili 55 mm, što je više od rezultata dobijenih u ovoj doktorskoj disertaciji gde je nakon četiri dana izmeren porast od 39 mm. **Maldonado-Archila et al. (2022)** zabeležili su manji porast (70 mm) za sedam dana gajenja, nego što je zabeleženo u ovoj doktorskoj disertaciji. Na osnovu dobijenih vrednosti porasta kolonija i poređenjem sa literaturnim podacima uočava se da su ove tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa vrlo varijabilne.

Pored makroskopskih karakteristika, ispitane su i mikroskopske karakteristike ovih vrsta. Izolati sve tri vrste gljiva obrazovali su makrokonidije ravnih ivica, sa zakrivljenom apikalnom ćelijom i bazalnom ćelijom u obliku stopala, sa tri do pet septi kao što su u istraživanjima opisali brojni autori (**Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Jiang et al., 2020; Zidan et al. 2020**). Dimenzije makrokonidija varirale su između ove tri vrste, kao i između izolata u okviru svake vrste. Najduže makrokonidije obrazovala je vrsta *F. subglutinans* (51,51 µm), dok su makrokonidije kod vrsta *F. verticillioides* (35,77 µm) i *F. proliferatum* (35 µm) bile približno iste dužine. Širina makrokonidija bila je slična kod vrsta *F. subglutinans* (4,33 µm) i *F. proliferatum* (4,29 µm), dok je vrsta *F. verticillioides* obrazovala uže makrokonidije (3,72 µm).

Prosečna dužina i širina makrokonidija kod izolata vrste *F. verticillioides* bila je sličnih dimenzija (17-38 x 2,5-4,7 µm) kao u literaturnim podacima (**Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Samson et al., 2004; Leslie and Summerell, 2006; Widiastuti et al., 2020; Zidan et al., 2020**). Duže makrokonidije (24-54 µm) opisali su **Hirata et al. (2001)**, dok su šire makrokonidije (2-5,9 µm) uočili **Hirata et al. (2001)** i **Yadav et al., 2022**.

Prosečna dužina i širina makrokonidija izmerena kod izolata vrste *F. proliferatum* bila je sličnih dimenzija (15,92-60,5 x 2-5 µm) kao u rezultatima istraživanja koje su objavili **Nelson et al. (1983), Burgess et al. (1994), Leslie and Summerell (2006), Chetri et al. (2010), Widiastuti et al. (2020), Yadav et al. (2022)**. Dužina makrokonidija bila je veća u istraživanjima koje su sprovedeli **Yilmaz et al. (2021)** i iznosila je 46,5-60,5 µm, dok je širina bila manja (3-4 µm). Za razliku od prethodnih autora, **Yurchenko et al. (2020)** izmerili su kraće (20,7-45,5 µm), a šire (2,8-6,1 µm) makrokonidije, dok **Prabhukarthikeyan et al. (2020)** nisu zabeležili njihovo prisustvo.

Prosečna dužina i širina makrokonidija kod izolata vrste *F. subglutinans* bila je slična dimenzijama (33-55 x 2,5-4,6 µm) koje su u svojim radovima dobili brojni autori (**Nelson**

et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Ristić et al., 2015). Duže makrokonidije (33-75 µm) uočili su Samson et al. (2004), Shin et al. (2014), Han et al. (2015), dok su uže makrokonidije (2,5-4 µm) opisali Samson et al. (2004) i Han et al. (2015).

Mezokonidije su formirali samo izolati vrste *F. subglutinans*. One su bile vretenastog oblika, zatupastog vrha, dimenzija 25 x 3,7 µm. Mezokonidije sličnih dimenzija (24-28 x 2,5-4 µm) i oblika zabeležene su u radovima drugih autora (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Samson et al., 2004; Leslie and Summerell, 2006; Shin et al., 2014; Ristić et al., 2015). Izolati vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum* nisu formirali mezokonidije, što su takođe u rezultatima svojih istraživanja uočili i brojni drugi autori (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Hirata et al., 2001; Samson et al., 2004; Leslie and Summerell, 2006; Chehri et al., 2010; Pascual et al., 2016; Widiastuti et al., 2020; Zidan et al., 2020; Yadav et al., 2022).

Sve tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa su formirale mikrokonidije ovalnog oblika, bez septi kao što je opisano u literaturi (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Yilmaz et al., 2021). Vrste *F. fujikuroi* kompleksa primarno su identifikovane na osnovu načina formiranja mikrokonidija. Vrsta *F. verticillioides* razlikovala se od vrste *F. proliferatum* po tome što je formirala mikrokonidije u dugim lancima iz monofijalida, dok je vrsta *F. proliferatum* formirala mikrokonidije u kraćim lancima iz monofijalida i polifijalida. Vrsta *F. subglutinans*, za razliku od druge dve vrste, nije formirala mikrokonidije u lancima, nego u lažnim glavicama na monofijalidama i polifijalidama. Na ovaj način brojni drugi autori su razlikovali ove tri vrste (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Pascual et al., 2016).

Prosečna dužina i širina mikrokonidija kod izolata vrste *F. verticillioides* bila je sličnih dimenzija (4-19 x 1,5-4,5 µm) kao što su opisali autori u brojnim istraživanjima (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Hirata et al., 2001; Samson et al., 2004; Leslie and Summerell, 2006; Pascual et al., 2016), dok su Widiastuti et al. (2020) i Zidan et al. (2020) u svojim istraživanjima zabeležili manju širinu mikrokonidija (2-3 µm).

Vrsta *F. proliferatum* formirala je kraće mikrokonidije (13,25 µm) u odnosu na vrste *F. verticillioides* (14,54 µm) i *F. subglutinans* (15,52 µm), dok je širina mikrokonidija bila slična kod sve tri vrste (4,04-4,1 µm). Prosečna dužina i širina mikrokonidija kod izolata vrste *F. proliferatum* istih je dimenzija kao mikrokonidija koje su opisane u drugim istraživanjima (Chehri et al., 2010; Jiang et al., 2020; Widiastuti et al., 2020; Zidan et al., 2020). Manje mikrokonidije (6,13-10,12 µm x 1,08-1,5 µm) zabeležili su Yadav et al. (2022), zatim Yurchenko et al. (2020) koji su opisali mikrokonidije dimenzija 4,5-10,8 x 1,5-3,2 µm i Prabhukarthikeyan et al. (2020) koji su u rezultatima svojih istraživanja izmerili mikrokonidije dimenzija 5,5-9 x 1,5-2 µm.

Vrsta *F. subglutinans* formirala je mikrokonidije istih dimenzija kao u rezultatima istraživanja drugih autora (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie and Summerell, 2006; Shin et al., 2014). Manje mikrokonidije (8-18 x 2,5-3 µm) opisali su Samson et al. (2004) i Han et al. (2015). Mikrokonidije manjih dimenzija (12-16 x 3-3,5 µm) zabeležili su i Ristić et al. (2015).

Vrste *F. fujikuroi* kompleksa koje su ispitivane u okviru ove doktorske disertacije nisu obrazovale hlamidospore. Wollenweber and Reinking (1925) su zabeležili ovu činjenicu 1925. godine, što su potvrdili i brojni drugi autori u svojim istraživanjima (Leslie

and Summerell, 2006; Pascual et al., 2016; Zidan et al., 2020; Yurchenko et al., 2020; Yilmaz et al., 2021; Maldonado-Archila et al., 2022).

Detaljna morfološka karakterizacija izolata tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa pokazala je da se ove tri vrste razlikuju u načinu formiranja konidiofora i mikrokonidija. Takođe, pokazala su da se *F. subglutinans* može razlikovati od ostale dve vrste na osnovu dužine makrokonidija. Ova morfološka razlika može biti korisna prvenstveno u preliminarnoj identifikaciji, jer veličine makrokonidija mogu biti varijabilne kako u okviru vrste, tako i između različitih vrsta *F. fujikuroi* kompleksa (Crous et al., 2021; Yilmaz et al., 2021).

5.3. Virulentnost vrsta *Fusarium fujikuroi* kompleksa

Virulentnost izolata vrsta *F. fujikuroi* kompleksa ispitana je na listovima ječma, klasu durum pšenice i na klasu pšenice, ječma i tritikalea.

Na listovima ječma nije bilo statistički značajne razlike u virulentnosti između vrsta *F. proliferatum* (4,564) i *F. subglutinans* (4,563), dok je vrsta *F. verticillioides* imala značajno nižu srednju ocenu virulentnosti u odnosu na prve dve vrste (2,914). Između izolata u okviru svake ispitivane vrste postojala je statistički značajna razlika u stepenu virulentnosti.

Razliku u stepenu virulentnosti u ispitivanim izolatima vrste *F. subglutinans* na listovima ječma uočili su i **Lević et al. (2018)**. Izolati ove vrste su formirali nekrotične pege veličine od 4 mm do 8,7 mm. Na listovima ječma razliku u virulentnosti izolata *Fusarium* spp. zabeležili su i **Opoku et al. (2011)**. U svojim istraživanjima **Imathiu et al. (2009)** izmerili su hlorotične i nekrotične pege dužine 2,00-8,47 mm, što je u skladu sa rezultatima iz ove doktorske disertacije. Duže pege zabeležili su **Browne (2007)** (5-9,97 mm) i **Sakr (2019)** koji je na listovima ječma izmerio dužinu formiranih pega od 7,36 mm do 8,29 mm.

Rezultati ispitivanja virulentnosti na klasu durum pšenice ukazali su da postoji statistički značajna razlika između dve godine istraživanja. U drugoj godini istraživanja svi izolati su bili virulentniji, što je posledica klimatskih uslova te godine. Povećana količina padavina u vreme klasanja pogodovala je razvoju infekcije, pa su samim tim ocene virulentnosti veće u drugoj godini. Do istog zaključka došli su i **Birr et al. (2019)** i **Birr et al. (2020)** kod kojih je intenzitet zaraze varirao svake godine u zavisnosti od meteoroloških uslova u periodu cvetanja klasa. **Lacey et al. (1999)** su, takođe, imali jači intenzitet zaraze u godini sa povećanom količinom padavina.

Na klasu durum pšenice najvirulentnija je bila vrsta *F. verticillioides*, dok se vrste *F. proliferatum* i *F. subglutinans*, kao i na listu ječma, nisu razlikovale u virulentnosti. U istraživanjima koje su **Al-Chaabi et al. (2015)** sprovedeli na klasu durum pšenice u Siriji vrsta *F. proliferatum* bila je najmanje virulentna, dok kod autora **Gebremariam et al. (2017)** izolati ove vrste nisu bili virulentni. Vrste ovog kompleksa su pre svega patogeni zrna žita, pa se time može objasniti veća virulentnost vrste *F. verticillioides* na klasu durum pšenice, nego na listu ječma.

Na klasu pšenice, ječma i tritikalea uočeno je da virulentnost vrsta *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans* zavisi od biljke domaćina. Sve tri vrste su bile najvirulentnije na klasu pšenice, umereno virulentne na klasu tritikalea i najslabije virulentne na klasu ječma. Rezultati ovih istraživanja su pokazali da nema razlike u virulentnosti između ove tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa.

Desjardins et al. (2007) takođe nisu uočili razliku u virulentnosti između vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum* na klasu pšenice. Za razliku od rezultata dobijenih u ovoj doktorskoj disertaciji **Minati and Mohammed-Ameen, 2020** su u svojim istraživanjima pokazali razliku u virulentnosti vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum* nakon inokulacije klasa pšenice, baš kao i **Ćosić et al. (2007)** kod kojih je vrsta *F. subglutinans* bila virulentnija od vrste *F. verticillioides*. Na klasu ječma **Ćosić et al. (2007)** nisu zabeležili razliku u virulentnosti između vrsta *F. verticillioides* i *F. subglutinans*.

5.4. Toksikološke karakteristike vrsta *Fusarium fujikuroi* kompleksa

Ispitivani izolati vrsta *F. fujikuroi* kompleksa pokazali su varijabilnost u sintezi fumonizina. Kod svih ispitivanih izolata vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum* zabeležena je sinteza fumonizina u visokim koncentracijama (23,26-60 µg/g). Kod velikog broja izolata vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum* zabeležena je sinteza fumonizina preko 60 µg/g, dok je kod izolata vrste *F. subglutinans* koncentracija fumonizina bila u niskim koncentracijama ili ispod praga detekcije.

U istraživanjima u Srbiji, **Stanković et al. (2012)** zabeležili su prisustvo fumonizina u uzorcima pšenice i ječma koji su sakupljeni od 2007. do 2009. godine. Prosečna koncentracija sintetisanog fumonizina kod pšenice iznosila je 0,852 µg/g, a kod ječma 0,768 µg/g. Iste godine **Tančić et al. (2012)** ispitivali su toksigeni potencijal kod izolata vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum* poreklom sa zrna pšenice. Za razliku od rezultata dobijenih u ovoj doktorskoj disertaciji, koncentracija sintetisanog fumonizina bila je veća kod izolata vrste *F. verticillioides* (696,38 µg/g), nego kod izolata vrste *F. proliferatum* gde je prosečna sinteza fumonizina bila 158,07 µg/g. Niske koncentracije fumonizina (0,002 do 0,016µg/g) u uzorcima pšenice 2010. godine zabeležili su **Krnjaja et al. (2011b)**. Za razliku od ovih autora, **Krstović et al. (2017)** ispitujući toksigeni potencijal izolata vrste *F. verticillioides* u in vitro uslovima zabeležili su koncentraciju sintetisanog fumonizina u rasponu 7-289 µg/kg.

Rezultati koje su dobili **Shi et al. (2016)** i **Beccari et al. (2020)** su u skladu sa rezultatima iz ove doktorske disertacije. U njihovim istraživanjima sinteza fumonizina kod izolata vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum* kretala se od 35 do 59 µg/g. Za razliku od rezultata iz ove doktorske disertacije, **Choi et al. (2018)** su zabeležili više koncentracije fumonizina kod izolata vrste *F. fujikuroi* kompleksa izolovanih iz zrna strnih žita u Koreji. Vrste *F. verticillioides* i *F. proliferatum* sintetisale su fumonizine u koncentracijama višim od 1000 µg/g, dok izolati vrste *F. subglutinans* nisu sintetisali fumonizine. Slične rezultate dobili su i **Pfordt et al. (2020)** u svojim istraživanjima. Ukupna koncentracija sintetisanih fumonizina koju su izmerili **Das Chagas Cardoso Filho et al. (2015)** kod vrste *F. verticillioides* bila je viša nego u izolatima korišćenim u ovoj doktorskoj disertaciji i kretala se od 84,3 µg/g do 2168,6 µg/g. Visoke koncentracije sintetisanih fumonizina (70 µg/g) u in vitro uslovima na KDA podlozi zabeležili su i **Frisvald et al. (2007)** i **Dozolme and Moukha, (2020)**. Niže koncentracije sintetisanog fumonizina zabeležili su **Qiu et al. (2020)** koji su testirali 144 izolata vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum*. Koncentracija sintetisanog fumonizina bila je u rangu od 13,71 µg/g do 24,96 µg/g.

6. Zaključak

U istraživanjima sprovedenim u okviru ove doktorske disertacije dobijeni su rezultati na osnovu kojih mogu da se izvedu sledeći zaključci:

- U toku četvorogodišnjih istraživanja od 2014. do 2017. godine iz zrna pšenice, durum pšenice, ječma i tritikalea izolovane su i identifikovane tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa i to: *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans*. Ovim je potvrđeno njihovo prisustvo na zrnu pšenice i ječma u Srbiji, dok su na zrnu durum pšenice prvi put opisane u Srbiji a na zrnu tritikalea prvi put su opisane u svetu.
- Korišćenjem specifičnih prajmera zasnovanih na genu za kalmodulin i *gaoB* genu ampliconi očekivanih veličina dobijeni su samo kod izolata odgovarajuće vrste. Nespecifičnih reakcija sa izolatima drugih vrsta nije bilo.
- Molekularna identifikacija i karakterizacija vrsta urađena je na osnovu analize ITS, TEF 1- α i PRB2 regiona. Najveća genetička varijabilnost uočena je kod vrste *F. proliferatum* i to u TEF 1- α i PRB2 regionu.
- Na osnovu sprovedenih filogenetskih analiza uočeno je da je region TEF 1- α uspešno razdvojio sve tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa i da je najprecizniji za identifikaciju ovih vrsta. Za razliku od TEF 1- α regiona, regioni ITS i RPB2 nisu mogli uspešno da razdvoje vrste *F. verticillioides* i *F. subglutinans*. Na osnovu ITS regiona vrsta *F. proliferatum* je izdvojena u posebnu granu, dok su izolati ove vrste na osnovu RPB2 regiona podeljeni u dve grane.
- Na osnovu makroskopskih karakteristika (boja i izgled micelije, pigmentacija podloge) nije uočena značajna varijabilnost između vrsta *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans* na osnovu koje je moguće pouzdano ih razlikovati na KDA podlozi.
- Nije bilo značajne razlike u srednjim vrednostima dnevnog porasta između ove tri vrste.
- Vrste *F. verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. subglutinans* obrazovale su makrokonidije ravnih ivica, zakrivljene apikalne ćelije, bazalne ćelije u obliku stopala, sa tri do pet septi. Najduže makrokonidije obrazovala je vrsta *F. subglutinans*, dok su makrokonidije kod vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum* bile približno iste dužine. Na osnovu širine makrokonidija utvrđeno je da je *F. verticillioides* obrazovala uže makrokonidije u poređenju sa ostale dve vrste.
- Mezokonidije je obrazovala vrsta *F. subglutinans*, dok ih druge dve vrste nisu formirale. Hlamidospore nijedna vrsta ovog kompleksa nije obrazovala.
- Mikrokonidije su bile ovalnog oblika, bez septi. Najkraće mikrokonidije formirala je vrsta *F. proliferatum*, dok je širina mikrokonidija bila slična kod sve tri vrste. Vrsta *F. verticillioides* obrazovala duge lance mikrokonidija iz monofijalida, dok je vrsta *F. proliferatum* obrazovala kratke lance mikrokonidija iz monofijalida i polifijalida na osnovu čega je bilo moguće razlikovati ove dve vrste. Vrsta *F. subglutinans* obrazovala je mikrokonidije na monofijalidama i polifijalidama u vidu lažnih glavica.
- Morfološkom karakterizacijom utvrđena je varijabilnost u načinu formiranja makrokonidija, mikrokonidija i konidiofora na osnovu koje je moguće preliminarno identifikovati vrste *F. fujikuroi* kompleksa.

- Ispitivanjem virulentnosti na listovima ječma nije uočena razlika u virulentnosti između vrsta *F. proliferatum* i *F. subglutinans*, dok je vrsta *F. verticillioides* imala manju ocenu virulentnosti.
- Tokom dvogodišnjeg ispitivanja virulentnosti na klasu durum pšenice utvrđeno je da je najvirulentnija bila vrsta *F. verticillioides*, dok su vrste *F. proliferatum* i *F. subglutinans* bile jednako virulentne. U drugoj godini istraživanja virulentnost je bila veća kod svih ispitivanih izolata, što je posledica povoljnih ekoloških uslova tokom ove godine.
- Na klasu pšenice, ječma i tritikalea sve tri vrste *F. fujikuroi* kompleksa su bile jednako virulentne. Sve tri vrste su ispoljile najveću virulentnost na klasu pšenice, dok je na klasu ječma njihova virulentost bila najmanja.
- Izolati iz strnih žita vrsta *F. verticillioides* i *F. proliferatum* sintetisali su fumonizine u visokim koncentracijama, dok je kod vrste *F. subglutinans* sinteza fumonizina zabeležena u niskim koncentracijama ili je bila ispod praga detekcije.

7. Literatura

Abbas, H.K., Cartwright, R.D., Xie, W., Mirocha, C.J., Richard, J.L., Dvorak, T.J. et al. (1999). Mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolates from rice with Fusarium sheath rot disease. *Mycopathologia*, 147: 97-104.

Abbas, H.K., Zablotowicz, R.M., Weaver, M.A., Horn, B.W., Xie, W. and Shier, W.T. (2004). Comparison of cultural and analytical methods for determination of aflatoxin production by Mississippi Delta *Aspergillus* isolates. *Canadian Journal of Microbiology*, 50 (3): 193-199.

Alberts, J.F., Vanzyl, W.H. and Gelderblom, W.C.A. (2016). Biologically based methods for control of fumonisin-producing *Fusarium* species and reduction of the fumonisins. *Frontiers in Microbiology*, 7: 548.

Al-Chaabi, S., Masri, S., Nahlawi, A. and Matrod, L. (2015). The causal agents of wheat crown and root rot in Syria, their pathogenicity, and the reaction of some wheat cultivars and wild relatives to the disease. *Arab Journal of Plant Protection*, 33: 116-129.

Aldughpassi, A., Wolever, T.M.S. and Abdel-Aal, E.S.M. (2016). Barley. *Encyclopedia of food and health*, 328-331.

Al-Hatmi, A.M.S., Sandoval-Denis, M., Nabet, C., Ahmed, S.A., Demar, M., Normand, A.C. and de Hoog, G.S. (2019). *Fusarium volatile* a new potential pathogen from a human respiratory sample. *Fungal Systematics and Evolution*, 4: 171-181.

Alizadeh, A., Javan-Nikkhah, M., Fotouhifar, K. B., Motlagh, E.R. and Rahjoo, V. (2010). Genetic diversity of *Fusarium proliferatum* populations from maize, onion, rice and sugarcane in Iran based on vegetative compatibility grouping. *The Plant Pathology Journal*, 26(3): 216-222.

Alkan, M., Özer, G., Mustafa, İ., Ozdemir, F., Morgounov, A. and Dababat, A.A. (2021). First report of *Fusarium culmorum* and *Microdochium bolleyi* causing root rot on triticale in Kazakhstan. *Plant Disease*, 105(7): 2015.

Amato, B., Pfohl, K., Tonti, S., Nipoti, P., Dastjerdi, R., Pisi, A., Prodi, A. and Karlovsky, P. (2015). *Fusarium proliferatum* and fumonisin B1 co-occur with *Fusarium* species causing Fusarium head blight in durum wheat in Italy. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 88: 228-233.

Amatulli, M.T., Spadaro, D., Gullino, M.L. and Garibaldi, A. (2012). Conventional and real-time PCR for the identification of *Fusarium fujikuroi* and *Fusarium proliferatum* from diseased rice tissues and seeds. *European Journal of Plant Pathology*, 134: 401-408.

Anisimova, O.K., Seredin, T.M., Danilova, O.A. and Filyushin, M. (2021). First report of *Fusarium proliferatum* causing garlic clove rot in Russian Federation. Plant Disease. doi: 10.1094/PDIS-12-20-2743-PDN. Epub ahead of print. PMID: 33835829.

Anthony, S., Abeywickrama, K., Dayananda, R., Wijeratnam, S.W. and Arambewela, L. (2004). Fungal pathogens associated with banana fruit in Sri Lanka, and their treatment with essential oils. Mycopathology, 157: 91-97.

Aoki, T., O'Donnell, K. and Geiser, D.M. (2014). Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. Journal of General Plant Pathology, 80: 189-201.

Arendt, E. and Zannini, E. (2013). Barley in cereal grains for the food and beverage industries. Technology and Nutrition, 155-200.

Ariño, A., Juan, T., Estopañan, G. and González-Cabo, J.F. (2007). Natural occurrence of *Fusarium* species, fumonisin production by toxigenic strains, and concentrations of fumonisins B₁ and B₂ in conventional and organic maize grown in Spain. Journal of Food Protection, 70: 151–156.

Backhouse, D. (2014). Global distribution of *Fusarium graminearum*, *F. asiaticum* and *F. boothii* from wheat in relation to climate. European Journal of Plant Pathology, 139: 161-173.

Battilani, P., Rossi, V. and Pietri, A. (2003). Modelling *Fusarium verticillioides* infection and fumonisin synthesis in maize ears. Aspects of Applied Biology, 68: 91-100.

Beccari, G, Senatore, M.T., Tini, F., Sulyok, M. and Covarelli, L. (2018). Fungal community, *Fusarium* head blight complex and secondary metabolites associated with malting barley grains harvested in Umbria, central Italy. International Journal of Food Microbiology, 273: 33-42.

Beccari, G, Stępień, Ł, Onofri, A, Lattanzio, V.M.T., Ciasca, B., Fatah, S.I.A. et al. (2020). *In vitro* fumonisin biosynthesis and genetic structure of *Fusarium verticillioides* strains from five Mediterranean countries. Microorganisms, 8(2): 241.

Beck, P., Jennings, J. and Rogers, J. (2020). Chapter 8 - Management of pastures in the upper south: The I-30 and I-40 Corridors, Editor(s): Monte Rouquette, Glen E. Aiken, Management strategies for sustainable cattle production in Southern Pastures, Academic Press, 189-226.

Birr, T., Hasler, M., Verreet, J.A. and Klink, H. (2020). Composition and predominance of *Fusarium* species causing *Fusarium* Head Blight in winter wheat grain depending on cultivar susceptibility and meteorological factors. Microorganisms, 8(4): 617.

Birr, T., Verreet, J.A. and Klink, H. (2019). Prediction of deoxynivalenol and zearalenone in winter wheat grain in a maize-free crop rotation based on cultivar susceptibility and meteorological factors. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 126:13-27.

Blacutt, A.A., Gold, S.E., Voss, K.A., Gao, M. and Glenn, A.E. (2018). *Fusarium verticillioides*: Advancements in understanding toxicity, virulence, and niche adaptation of a model mycotoxigenic pathogen of maize. *Phytopathology Review*, 108: 312-326.

Blandino, M., Haidukowski, M., Pascale, M., Plizzari, L., Scudellari, D. and Reyneri, A. (2012). Integrated strategies for the control of *Fusarium* head blight and deoxynivalenol contamination in winter wheat. *Field Crops Research*, 133: 139-149.

Bottalico, A. and Perrone, G. (2002). Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 611-624.

Boutigny, A.L., Ward, T.J., Ballois, N., Iancu, G. and Ioos, R. (2014). Diversity of the *Fusarium graminearum* species complex on French cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 138: 133-148.

Braun, M.S. and Wink, M. (2018). Exposure, occurrence, and chemistry of fumonisins and their cryptic derivatives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17: 769-791.

Britz, H., Steenkamp, E.T., Coutinho, T.A., Wingfield, B.D., Marasas, W.F. and Wingfield, M.J. (2002). Two new species of *Fusarium* section *Liseola* associated with mango malformation. *Mycologia*, 94: 722-730.

Browne, R.A. (2007). Components of resistance to fusarium head blight (FHB) in wheat detected in a seed-germination assay with *Microdochium majus* and the relationship to FHB disease development and mycotoxin accumulation from *Fusarium graminearum* infection. *Plant Pathology*, 56: 65-72.

Bruns, T.D. (2001). ITS reality. *Inoculum*, 52: 2-3.

Burgess, W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P. and Backhouse, D. (1994). Laboratory manual for *Fusarium* research. Third edition. *Fusarium* research laboratory, Department of Crop Sciences. University of Sydney and Royal Botanic Gardens, Sydney, 133.

Carrieri, R., Raimo, F., Pentangelo, A. and Lahoz, A. (2013). *Fusarium proliferatum* and *Fusarium tricinctum* as causal agents of pink rot of onion bulbs and the effect of soil solarization combined with compost amendment in controlling their infections in field. *Crop Protection*, 43: 31-37.

- Chandra Nayaka, S., Udaya Shankar, A.C.G., Niranjana, S.R. and Prakash, H.S. (2008).** Molecular detection and characterisation of *Fusarium verticillioides* in maize (*Zea mays* L.) grown in southern India. *Annals of Microbiology*, 58(3): 359-367.
- Chang, X., Yan, L., Naeem, M., Khaskheli, M.I., Zhang, H., Gong, G. et al. (2020).** Maize/soybean relay strip intercropping reduces the occurrence of *Fusarium* root rot and changes the diversity of the pathogenic *Fusarium* species. *Pathogens*, 9 (3): E211.
- Chehri, K., Salleh, B., Yli-Mattila, T., Soleimani, M.J. and Yousefi, A.R. (2010).** Occurrence, pathogenicity and distribution of *Fusarium* spp. in stored wheat seeds Kermanshah Province, Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(24): 1178-1186.
- Choi, J.H., Lee, S., Nah, J.Y., Kim, H.K., Paek, J.S., Lee, S. et al. (2018).** Species composition of and fumonisin production by the *Fusarium fujikuroi* species complex isolated from Korean cereals. *International Journal of Food Microbiology*, 267: 62-69.
- Commission, E. Commission regulation (EC): 1881/2006** of december 19th 2006 replacing regulation (EC) 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official journal of the European Community 2006, L364, 5-24.
- Cong, L.L., Sun, Y., Kang, J.M., Li, M.N., Long, R.C., Zhang, T.J. and Yang, Q.C. (2016).** First report of root rot disease caused by *Fusarium proliferatum* on alfalfa in China. *Plant Disease*, 100(12): 25-26.
- Cook, R.J. (1981).** *Fusarium* diseases of wheat and other small grains in North America. 53-55. *The Pennsylvania State University Press*.
- Coppock, R.W. and Dziwenka, M.M. (2014).** Mycotoxins. In Gupta, R. (Ed.), *Biomarkers in toxicology* (pp. 549-562). United States of America: *Elsevier Academic Press*.
- Corpas-Hervias, C., Melero-Vara, J.M., Molinero-Ruiz, M.L., Zurera-Muñoz, C. and Basallote-Ureba, M.J. (2006).** Characterization of isolates of *Fusarium* spp. obtained from asparagus in Spain. *Plant Disease*, 90: 1441-1451.
- Covarelli, L., Beccari, G., Prodi, A., Generotti, S., Etruschi, F., Juan, C. et al. (2015).** *Fusarium* species, chemotype characterisation and trichothecene contamination of durum and soft wheat in an area of central Italy. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 95(3): 540-551.
- Covarelli, L., Gardiner, D., Beccari, G. and Nicholson, P. (2013).** *Fusarium* virulence assay on wheat and barley seedlings. *Bio-protocol*, 3(7): e446.
- Covarelli, L., Stifano, S., Beccari, G., Raggi, L., Lattanzio, V.M.T. and Albertini, E. (2012).** Characterization of *Fusarium verticillioides* strains isolated from maize in Italy: Fumonisin production, pathogenicity and genetic variability. *Food Microbiology*, 31: 17-24.

Crous, P.W., Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Seifert, K.A., Schroers, H.J., Chaverri, P. et al. (2021). *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. *Studies in Mycology*, 98: 100116.

Ćosić, J., Jurković, D., Vradenčić, K. and Šimić, B. (2007). Pathogenicity of *Fusarium* species to wheat and barley ears. *Cereal Research Communications*, 35(2): 529-532.

Das Chagas Cardoso Filho, F., Keller, K.M., Raposo Costa, A.P., Gomes Pereira, M.M., Ramirez, M.L. and Sanches Muratori, M.C. (2015). *Fusarium verticillioides* and its fumonisin production potential in maize meal. *Agrária - Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 10(4): 553-557.

De Matos, A.P. and Cabral, J.R.S. (2006). Evaluation of pineapple genotypes for resistance to *Fusarium subglutinans*. *Acta Horticulturae*, 702: 73-77.

De Sousa, R.R., Argüelles Osório, P.R., Pinto e Nosé, N., De Arruda, G.L., De Souza Ferreira, T.P., Haesbaert, F.M. and Dos Santos, G.R. (2022). Detection and transmission of *Fusarium verticillioides* in corn seeds according to the plant stage. *Acta Scientiarum Agronomy*, vol. 44, e53213.

De Wolf, E., Madden, L. and Lipps, P. (2003). Risk assessment models for wheat *Fusarium* head blight epidemics based on within-season weather data. *Phytopathology*, 93: 428-435.

Dean, R., Van Kan, J.A.L., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D. et al. (2012). The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13: 414-430.

Deepa, N. and Sreenivasa, M.Y. (2017). *Fusarium verticillioides*, a globally important pathogen of agriculture and livestock: A Review. *Journal of Veterinary Medicine and Research*, 4(4): 1084.

Deepa, N. and Sreenivasa, M.Y. (2019). Chapter 9-Sustainable approaches for biological control of mycotoxigenic fungi and mycotoxins in cereals. In: Singh J.S., editor. *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands, pp. 149-161.

Desjardins, A.E. (2006). *Fusarium*-mycotoxins chemistry genetics and biology; APS Press: St. Paul, MN, USA.

Desjardins, A.E., Busman, M., Proctor, R.H. and Stessman, R. (2007). Wheat kernel black point and fumonisin contamination by *Fusarium proliferatum*. *Food Additives and Contaminants*, 24: 1131-1137.

Desjardins, A.E., Manandhar, G.G., Plattner, R.D., Maragos, C.M., Shrestha, K. and McCormick, S.P. (2000). Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Nepalese maize

and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 1377-1383.

Dissanayake, M.L.M.C., Tanaka, S. and Ito, S. (2009). Fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* strains isolated from *Allium fistulosum* plants and seeds in Japan. *Letters in Applied Microbiology*, 48: 598-604.

Dongyou, L. (2009). Molecular detection of foodborne pathogens. *Fusarium*. (Ed.). Dongyou Liu, RCPA Biosecurity QAP, New South Wales, Australia. Publications of CRC Press. Chapter 41. pp.577-592.

Dopuđa, M. i Lević, J. (2004). Sastav mikrobiote (*Fusaria*) semena pšenice na području Srema, ZB. str. 112, 5. Kongres zaštite bilja, Zlatibor, 22-26. novembra 2004.

Dozolme, P.M.A. and Moukha, S.M. (2020). The *in vitro* production potentialities of secondary toxic metabolites by the fungal factory *Fusarium verticillioides* is, fortunately, largely underestimated in fields: pioneering study on fumonisins. *Frontiers in Microbiology*, 11: 562754.

Drakopoulos, D., Kägi, A., Gimeno, A., Six, J., Jenny, E., Forrer, H.R. et al. (2020). Prevention of *Fusarium* head blight infection and mycotoxins in wheat with cut-and-carry biofumigation and botanicals. *Field Crops Research*, 246(11):107681.

Du, X.H., Zhao, Q., Yang, Z.L., Hansen, K., Taşkın, H., Büyükalaca, S. et al. (2012). How well do ITS rDNA sequences differentiate species of true morels (*Morchella*)? *Mycologia*, 104: 1351-1368.

Duan, C.X., Qin, Z.H., Yang, Z.H., Li, W.X., Sun, S.L., Zhu, Z.D. and Wang, X.M. (2016). Identification of pathogenic *Fusarium* spp. causing maize ear rot and potential mycotoxin production in China. *Toxins*, 8(6): 186.

Dubat, A. (2013). Chapter 12 - Whole-kernel mixolab testing for different cereals, Editor(s): Arnaud Dubat, Cristina M. Rosell, Eimear Gallagher, In *American associate of cereal chemists international*, Mixolab, AACC International Press, 85-88.

Đekić, I., Udovički, B., Gajdoš Kljusurić, J., Papageorgiou, M., Jovanović, J., Giotsas, C. et al. (2019). Exposure assessment of adult consumers in Serbia, Greece and Croatia to deoxynivalenol and zearalenone through consumption of major wheat-based products. *World Mycotoxin Journal*, 12(4): 1-12.

Elmer, W.H. (2000). Incidence of infection of asparagus spears marketed in Connecticut by *Fusarium* spp. *Plant Disease*, 84: 831-834.

Faria, C.B., Abe, C.A.L., da Silva, C.N., Tessman, D.J. and Barbosa-Tessman, I.P. (2012). New PCR assays for the identification of *Fusarium verticillioides*, *Fusarium subglutinans*, and

otherspecies of the *Gibberella fujikuroi* complex. International Journal of Molecular Sciences,13: 115-132.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): FAOSTAT, Dostupno na stranici: [database.http://www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org). (stranica posećena 22.12.2020)

Food Price Index (FPI). Dostupno na stranici: <http://www.fao.org/worldfoodsituation/foodpricesindex/en/>(stranica posećena 22.12.2020)

Friskop, A., Bergstrom, G., Bradley, C., Klezewski,N., Marshall, J., Smith, D. et al. (2021). An overview of Fusarium head blight. Crop Protection Network, DOI: doi.org/10.31274/cpn-20211118-0.

Frisvald, J.C., Smedsgaard, J., Samson, R.A., Larsen, T.O. and Thrane, U. (2007). Fumonisin B2 production by *Aspergillus niger*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 9727-9732.

Fredlund, E., Gidlund, A., Sulyok, M., Börjesson, T., Krska, R. and Olsen, M. (2013). Deoxynivalenol and other selected *Fusarium* toxins in Swedish oats–occurrence and correlation to specific *Fusarium* species. International Journal of Food Microbiology, 167: 276-283.

Fumero, M.V., Reynoso, M.M. and Chulze, S. (2015). *Fusarium temperatum* and *Fusarium subglutinans* isolated from maize in Argentina. International Journal of Food Microbiology, 199: 86-92.

Fumero, M.V., Villani, A., Susca, A., Haidukowski, M., Cimmarusti, M.T., Toomajian, C. et al. (2020). Fumonisin and beauvericin chemotypes and genotypes of the sister species *Fusarium subglutinans* and *Fusarium temperatum*. Applied and Environmental Microbiology, 86(13): e00133-20.

Furman, B.J. (2016). Triticale, In book: Reference module in food science, Elsevier. DOI:[10.1016/B978-0-08-100596-5.00019-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00019-6)

Gazis, R., Rehner, S. and Chaverri, P. (2011). Species delimitation of fungal endophyte diversity studies and its implications in ecological and biogeographic inferences. Molecular Ecology, 20: 3001-3013.

Gebremariam, E.S., Sharma-Poudyal, D., Paulitz, T.C., Erginbas-Orakci G., Karakaya, A. and Dababat, A. (2017). Identity and pathogenicity of *Fusarium* species associated with crown rot on wheat (*Triticum* spp.) in Turkey. European Journal of Plant Pathology, 150: 387-399.

Geiser, D.M., del Mar Jiménez-Gasco, M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J. et al. (2004). FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 473-479.

Geiser, D.M., Ivey, M.L.L., Hakiza, G., Juba, J.H. and Miller, S.A. (2005). *Gibberella xylarioides* (anamorph: *Fusarium xylarioides*), a causative agent of coffee wilt disease in Africa, is a previously unrecognized member of the *G. fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 97: 191-201.

Gelderblom, W.C.A., Jaskiewicz, K., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Horak, R.M., Vleggaar, R. and Kriek, N.P.J. (1988). Fumonisin—Novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*, 54: 1806-1811.

Gencheva, D. and Beev, G. (2020). Molecular identification of *Fusarium* spp. isolated from wheat based on sequencing of internal transcribed spacer (ITS) region. *Acta Microbiologica Bulgarica*, 37(1): 27-33.

Ghiasian, S.A., Kord-Bacheh, P., Rezayat, S.M., Maghsood, A.H, and Taherkhani, H. (2004). Mycoflora of Iranian maize harvested in the main production areas in 2000. *Mycopathologia*, 158: 113-121.

Gilchrist, L., Vivar, H. Franco, J. and Crossa, J. (1997). Comparing *Fusarium graminearum* infection period in wheat and barley. *Cereal Research Communication*, 25 (3/2): 739-740.

Glenn, A.E., Hinton, D.M., Yates, I.E. and Bacon, C.W. (2001). Detoxification of corn antimicrobial compounds as the basis for isolating *Fusarium verticillioides* and some other *Fusarium* species from corn. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(7): 2973-2981.

Goliński, P., Waśkiewicz, A., Wiśniewska, H., Kiecana, I., Mielniczuk, E., Gromadzka, M. et al. (2010). Reaction of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to infection with *Fusarium* spp. mycotoxins contamination in grain and chaff. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 27: 1015-1024.

Gorczyca, A., Oleksy, A., Gala-Czekaj, D., Urbaniak, M., Laskowska, M., Waśkiewicz, A. and Stępień, Ł. (2017). *Fusarium* head blight incidence and mycotoxin accumulation in three durum wheat cultivars in relation to sowing date and density. *Die Naturwissenschaften*, 105(1-2): 2.

Gortz, A., Oerke, E.C., Steiner, U., Waalwijk, C., De Vries, I. and Dehne, H.W. (2008). Biodiversity of *Fusarium* species causing ear rot of maize in Germany. *Cereal Research Communications*, 36: 617-622.

Goswami, R. and Kistler, H. (2004). Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Molecular Plant Pathology*, 5: 515-525.

Gromadzka, K., Górna, K., Chełkowski, J. and Waśkiewicz, A. (2016). Mycotoxins and related *Fusarium* species in preharvest maize ear rot in Poland. *Plant, Soil and Environment*, 62(8): 348-354.

Han, K.S., Park, J.H., Back, C.G. and Park, M.J. (2015). First report of *Fusarium subglutinans* causing Leaf spot disease on *Cymbidium* orchids in Korea. *Mycobiology*, 43(3): 343-346.

Hancock, J.F. (2012). *Plant evolution and the origin of crop species* (3rd eds.). CABI. Wallingford, UK.

Harrow, S.A., Farrokhi-Nejad, R., Pitman, A.R., Scott, I.A., Bentley, A., Hide, C., et al. (2010). Characterisation of New Zealand *Fusarium* populations using a polyphasic approach differentiates the *F. avenaceum* / *F. acuminatum* / *F. tricinctum* species complex in cereal and grassland systems. *Fungal Biology*, 114(4): 293-311.

Herron, D.A., Wingfield, M.J., Wingfield, B.D., Rodas, C.A., Marincowitz, S. and Steenkamp, E.T. (2015). Novel taxa in the *Fusarium fujikuroi* species complex from *Pinus* spp. *Studies in Mycology*, 80: 131-150.

Hirata, J.T., Kimishima, E., Aoki, T., Nirenberg, H.I. and O'Donnell, K. (2001). Morphological and molecular characterization of *Fusarium verticillioides* from rotten banana imported into Japan. *Mycoscience*, 42: 155-166.

Hofgaard, I.S., Aamot, H.U., Torp, T., Jestoi, M., Lattanzio, V.M.T., Klemsdal, S.S. et al. (2016). Associations between *Fusarium* species and mycotoxins in oats and spring wheat from farmers's fields in Norway over a six-year period. *World Mycotoxin Journal*, 9: 365-378.

Hogg, A.C., Johnston, R.H., Johnston, J.A., Klouser, L., Kephart, K.D. and Dyer, A.T. (2010). Monitoring *Fusarium* crown rot populations in spring wheat residues using quantitative real-time polymerase chain reaction. *Phytopathology*, 100(1): 49-57.

Huong, B.T.M., Tuyen, L.D., Do, T.T., Madsen, H., Brimer L. and Dalsgaard A. (2016). Aflatoxins and fumonisins in rice and maize staple cereals in Northern Vietnam and dietary exposure in different ethnic groups. *Food Control*, 70: 191-200.

Hyun, J.W., Lee, S.C., Kim, D.H., Ko, S.W. and Kim, K.S. (2000). *Fusarium* fruit rot of citrus in Jeju Island. *Mycobiology*, 28: 158-162.

International Agency of Research of Cancer - IARC (2002). Fumonisin B1, 82.

IBM Corp. (2017). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.

Imathiu, M.S., Ray, V.R., Back, M., Hare, C.M. and Edwards, G.S. (2009). *Fusarium langsethiae* pathogenicity and aggressiveness towards oats and wheat in wounded and unwounded in vitro detached leaf assays. *European Journal of Plant Pathology*, 124: 117-126.

Infantino, A., Santori, A. and Shah, D.A. (2012). Community structure of the *Fusarium* complex on wheat seed in Italy. *European Journal of Plant Pathology*, 132: 499-510.

International Grains Council [IGC] (2020). World Grain Statistics 2016. Dostupno na stranici: <https://www.igc.int/en/subscriptions/subscription.aspx> (stranica posećena 21.05.2020.)

Ivić, D., Kovacevik, B., Vasilj, V. and Idžaković, N. (2011). Occurrence of potentially toxigenic *Fusarium verticillioides* and low fumonisin B1 content on barley grain in Bosnia and Herzegovina. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 84: 121-124.

Jablońska, E., Piątek, K., Wit, M., Mirzwa-Mróż, E. And Wakulinski, W. (2020). Molecular diversity of the *Fusarium fujikuroi* complex from maize. *European Journal of Plant Pathology*, 158: 859-877.

Jahan Quazi, S.A., Sariah, M., Hawa, J. and Zainal Abidin, B.M.A. (2013). Characterization of *Fusarium proliferatum* through species-specific primers and its virulence on rice seeds. *International Journal of Agriculture & Biology*, 15: 649-656.

Jenkinson, P. and Parry, D.W. (1994). Isolation of *Fusarium* species from common broad-leaved weeds and their pathogenicity to winter wheat. *Mycological Research*, 98: 776-780.

Jiang, H., Wu, N., Jin, S., Ahmed, T., Wang, H., Li, B. et al. (2020). Identification of rice seed-derived *Fusarium* spp. and development of LAMP assay against *Fusarium fujikuroi*. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 10(1): 1.

Jurado, M., Vázquez, C., Marin, S., Sanchis, V. and González-Jaén M.T. (2006). PCR-based strategy to detect contamination with mycotoxigenic *Fusarium* species in maize. *Systematic and Applied Microbiology*, 29: 681-689.

Kamel, M.A.M., Cortesi, P. and Saracchi, M. (2016). Etiological agents of crown rot of organic bananas in Dominican Republic. *Postharvest Biology & Technology*, 120: 112-120.

Kamle, M., Mahato, D.K., Devi, S., Lee, K.E., Kang, S.G. and Kumar, P. (2019). Fumonisin: Impact on agriculture, food, and human health and their management strategies. *Toxins*, 11: 328.

Kelly, A.C., Clear, R.M., O'Donnell, K., McCormick, S., Turkington, T.K., Tekauz, A. et al. (2015). Diversity of *Fusarium* head blight populations and trichothecene toxin types

reveals regional differences in pathogen composition and temporal dynamics. *Fungal Genetics and Biology*, 82: 22-31.

Kemp, G.H.J., Pretorius, Z.A. and Wingfield, M.J. (1996). *Fusarium* glume spot of wheat: A newly recorded mite-associated disease in South Africa. *Plant Disease*, 80: 48-51.

Kerenyi, Z., Zeller, K., Hornok, L. and Leslie, J.F. (1999). Molecular standardization of mating type terminology in the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Applied Environmental Microbiology*, 65: 4071-4076.

Kochiieru, Y., Mankevičienė, A., Cesevičienė, J., Semaškienė, R., Dabkevičius, Z. and Janavičienė, S. (2020). The influence of harvesting time and meteorological conditions on the occurrence of *Fusarium* species and mycotoxin contamination of spring cereals. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 100(7): 2999-3006.

Köhl, J., De Haas, B.H., Kastelein, P., Burgers, S.L.G.E. and Waalwijk, C. (2007). Population dynamics of *Fusarium* spp. and *Microdochium nivale* in crops and crop residues of winter wheat. *Phytopathology*, 97: 971-978.

Kriss, A.B., Madden, L.V., Paul, P.A. and Xu, X. (2012). Heterogeneity of *Fusarium* head blight of wheat: multi-scale distributions and temporal variation in relation to environment. *Plant Health Progress*, 13(1).

Krnjaja, V., Lević, J., Ivanović, M. and Tomić, Z. (2003). *Fusarium* species associated with seeds of alfalfa cultivars. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 39: 275-278.

Krnjaja, V., Lević, J. and Stanković, S. (2008). Pathogenic fungi on wheat grain in Serbia. *Journal of Plant Pathology*, 90 (3): 58.

Krnjaja, V., Stanković, S. and Lević, J. (2011a). The presence of toxigenic *Fusarium* species and Fusariotoxins deoxynivalenol and zearalenone in winter wheat. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 27(1): 63-73.

Krnjaja, V., Lević, J., Stanković, S. and Stepanić, A. (2011b). *Fusarium* species and their mycotoxins in wheat grain, *Matica Srpska Proceedings for Nature Sciences*, 120: 41-48.

Krstović, S., Jakšić, S., Bočarov-Stančić, A., Stanković, S., Janković, S. and Jajić, I. (2017). Fumonisin production potential of *Fusarium verticillioides* isolated from Serbian maize and wheat kernels. *Matica Srpska Proceedings for Nature Sciences*, 133: 71-78.

Lacey, J., Bateman, G.L. and Mirocha, C.J. (1999). Effects of infection time and moisture on development of ear blight and deoxynivalenol production by *Fusarium* spp. in wheat. *Annals of Applied Biology*, 134: 277-283.

Lanza, F.E., Zambolim, L., da Costa, R.V., Queiroz, V.A.V., Cota, L.V., da Silva, D.D. et al. (2014). Prevalence of fumonisin-producing *Fusarium* species in Brazilian corn grains. *Crop Protection*, 65: 232-237.

Leslie, J.F. and Summerell, B.A. (2006). The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell, Oxford, UK. In: Summerell, B. A., Leslie, J. F., Backhouse, D., Bryden, W. L., Burgess, L. W. (eds). *Fusarium: Paul E. Nelson memorial symposium*. St. Paul, Minnesota: APS Press.

Leslie, J.F., Zeller, K.A., Lamprecht, S.C., Rheeder, J.P. and Marasas, W.F. (2005). Toxicity, pathogenicity and genetic differentiation of five species of *Fusarium* from sorghum and millet. *Phytopathology*, 95(3): 275-283.

Leslie, J.F., Zeller, K.A., Wohler, M. and Summerell, B.A. (2004). Interfertility of two mating populations in the *Gibberella fujikuroi* species complex. *European Journal of Plant Pathology*, 110(5-6): 611-618.

Lević, J. (2008). Vrste roda *Fusarium*, Institut za kukuruz "Zemun Polje" i Društvo genetičara Srbije, Cicero, Beograd.

Lević, J., Ivanović, D., Petrović, T. i Stojkov, S. (2001). Ambijentalni uslovi za pojavu fuzarioza kukuruza i biosintezu mikotoksina. Zbornik rezimea radova sa V jugoslovenskog savetovanja o zaštiti bilja, Zlatibor.

Lević, J., Stanković, S. i Krnjaja, V. (2008). Štetni mikroorganizmi u uskladištenom žitu. Kljajić, P. (ed.), *Zaštita uskladištenih biljnih proizvoda od štetnih organizama*, Vizartis, Beograd, 39-66.

Lević, T.J., Stanković, S.Ž., Krnjaja, V.S. and Bočarov-Stančić, S.A. (2009). *Fusarium* species: The occurrence and the importance in agriculture of Serbia. *Matica Srpska Proceedings for Nature Sciences*, 116: 33-48.

Lević, J., Stanković, S., Krnjaja, V., Bočarov-Stančić, A. and Ivanović, D. (2012a). Distribution frequency and incidence of seed-borne pathogens of some cereals and industrial crops in Serbia, *Pesticides&Phytomedicine*, 27(1): 33-40.

Lević, J., Stanković, S., Krnjaja, V., Tančić, S., Ivanović, D. and Bočarov-Stančić, S.A. (2012b). Relationships of mycobiota on rachides and kernels of wheat. *European Journal of Plant Pathology*, 134: 249-256.

Lević, J., Munaut, F., Scauflaire, J., Stanković, S., Ivanović, D. and Krnjaja, V. (2018). Polyphasic approach used for distinguishing *Fusarium temperatum* from *Fusarium subglutinans*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 21: 221-232.

Liu, Y.J., Whelen, S. and Hall, B.D. (1999). Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 1799-1808.

Logrieco, A., Bottalico, A., Mulè, G., Moriatti, A. and Perrone, G. (2003). Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some mediterranean crops. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 557-645.

Logrieco, A., Moretti, A., Castella, G., KostECKI, M., Golinski, P., Ritieni, A. and Chelkowski, J. (1998). Beauvericin production by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology Journal*, 64(8): 3084-3088.

Machado, J.C., Langerak, C.J. and Jaccoud-Filho, D.S. (2002). Seed-borne fungi: A contribution to routine seed health analysis, ISTA/UFLA: Bassersdorf, Switzerland.

Maciel, C.G., Walker, C., Santos, R.F., Muniz, M.F. and Brum, D.L. (2017). *Fusarium oxysporum* and *F. verticillioides* associated with damping-off in *Pinus* spp. *Revista Ciencia Agronomica*, 48: 134-141.

Madgwick, J.W., West, J., White, R., Semenov, M.A., Townsend, J.A., Ledger Fitt, B.D. and Turner, J.A. (2011). Impacts of climate change on wheat anthesis and Fusarium ear blight in the UK, *European Journal of Plant Pathology*, 130(1): 117-131.

Magculia, N.J.F. and Cumagun, C.J.R. (2011). Genetic diversity and PCR-based identification of potential fumonisin-producing *Fusarium verticillioides* isolates infecting corn in the Philippines. *Tropical Plant Pathology*, 36(4): 225-232.

Maldonado-Archila, G., Ligarreto-Moreno, G. and Gómez-Caro, S. (2022). *Fusarium* species that cause corn stalk rot in the Ubaté valley of Cundinamarca, Colombia. *Agronomía Colombiana*, 40(2): 237-248.

Mankevičienė, A., Gaurilčikienė, I. and Supronienė, S. (2008). The infestation of winter rye and triticale grain with *Fusarium* fungi as affected by fungicide use. *Cereal Research Communications*, 36: 683-687.

Marić, A. i Jevtić, R. (2001). Atlas bolesti ratarskih biljaka, Poljoprivredni fakultet, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, str. 9-29.

Marín, S., Sanchis, V., Ramos, A.J., Vinas, I. and Magan, N. (1998). Environmental factors, *in vitro* interactions, and niche overlap between *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum* and *F. graminearum*, *Aspergillus* and *Penicillium* species from maize grain. *Mycological Research*, 102: 831-837.

Martinez-Espinoza, A., Vermeer, B., Youmans, J., Campus, G. and Buck, J. (2015). "Identification and control of Fusarium head blight (Scab) of wheat in Georgia", Department of Plant Pathology.

Matny, O.N. (2015). Fusarium head blight and crown rot on wheat and barley: losses and health risks. *Advances in Plants & Agriculture Research*, 2(1): 38-43.

McMullen, M., Bergstrom, G., De Wolf, E., Dill-Macky, R., Hershman, D., Shaner, G. and Van Sanford, D.A. (2012). Unified effort to fight an enemy of wheat and barley: Fusarium head blight. *Plant Disease*, 96: 1712-1728.

McMullen, M.P., Enz, J., Lukach, J. and Stover, R. (1997). Environmental conditions associated with Fusarium head blight epidemics of wheat and barley in the northern great plains, North America. *Cereal Research Communications*, 25: 777-778.

Mesterházy, A., Bartók, T., Mirocha, C.G. and Komoróczy, R. (1999). Nature of wheat resistance to Fusarium head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant Breeding*, 188: 97-110.

Mielniczuk, E. and Skwaryło-Bednarz, B. (2020). Fusarium head blight, mycotoxins and strategies for their reduction. *Agronomy*, 10(4): 509-535.

Minati, M.H. and Mohammed-Ameen, M.K. (2020). Pathogenicity of nine *Fusarium* species causing head blight and crown rot in Iraqi wheat cropping system, Basra province. *Journal of Physics: Conference Series*, 1664.

Mohammadi, A., Nejad, R.F. and Mofrad, N.N. (2012). *Fusarium verticillioides* from sugarcane, vegetative compatibility groups and pathogenicity. *Plant Protection Science*, 48: 80-84.

Mohammadi, A., Shams-Ghahfarokhi, M., Nazarian-Firouzabadi, F., Kachuei, R., Gholami-Shabani, M. and Razzaghi-Abyaneh, M. (2016). *Giberella fujikuroi* species complex isolated from maize and wheat in Iran: distribution, molecular identification and fumonisin B1 in vitro biosynthesis. *Journal of Science, Food and Agriculture*, 96(4): 1333-1340.

Mohammed, A.M. and Al-Ani, L. (2021). Identification and production of beauvericin by *Fusarium subglutinans* and *Fusarium sacchari* from sugarcane. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 64(6): e21200088.

Möller, E.M., Chełkowski, J. and Geiger, H.H. (1999). Species-specific PCR assays for the fungal pathogens *Fusarium moniliforme* and *Fusarium subglutinans* and their application to diagnose maize ear rot disease. *Journal of Phytopathology*, 147: 497-508.

Molnár, O. (2016). *Fusarium proliferatum* causing head blight on oat in Hungary. *European Journal of Plant Pathology*, 146(3): 699-703.

Moretti, A. (2009). Taxonomy of *Fusarium* genus, a continuous fight between lumpers and splitters. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, 117: 7-13.

- Moussa, T.A.A., Al-Zahrani, H.S., Kadasa, N.M.S., Ahmed, S.A., de Hoog, G.S. and Al-Hatmi, A.M.S. (2017).** Two new species of the *Fusarium fujikuroi* species complex isolated from the natural environment. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110(6): 819-832.
- Mulè, G., Susca, A., Stea, G. and Moretti, A. (2004).** A species-specific PCR assay based on the calmodulin partial gene for identification of *F. verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. subglutinans*. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 495-502.
- Munkvold, G.P. (2017).** *Fusarium* species and their associated mycotoxins. In: Moretti A, Susca A (eds), *Mycotoxigenic fungi: methods and protocols*: 51-106. Humana Press, Totowa, NJ, USA.
- Munkvold, G.P. and Desjardins, A.E. (1997).** Fumonisin in maize: can we reduce their occurrence? *Plant Disease*, 81: 556-565.
- Najihah, A., Nurain Izzati, M.Z., Yong, S.Y.C. and Nik Mohdizham, M.N. (2017).** Characterization of *Fusarium proliferatum* and *Fusarium verticillioides* based on species-specific gene and microsatellites analysis. *Sains Malaysiana*, 46(12): 2425-2432.
- Nelson, P.E., Plattner, R.D., Shackelford, D.D. and Desjardins, A.E. (1991).** Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* strains from various substrates and geographic areas. *Applied and Environmental Microbiology*, 57: 2410-2412.
- Nelson, P.E., Toussoun T.A. and Marasas, W.F. (1983).** *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park, PA, USA.
- Nilsson, R.H., Tedersoo, L., Lindahl, B.D., Kjølner, R., Carlsen, T., Quince, C. et al. (2011).** Towards standardization of the description and publication of next-generation sequencing datasets of fungal communities. *New Phytologist*, 119: 314-318.
- Nirenberg, H.I. and O'Donnell, K. (1998).** New *Fusarium* species and combinations with in the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90: 434-458.
- Novković, N., Vukelić, N., Janošević, M., Nikolić, S. and Arsić, S. (2020).** Analysis and forecast of the production parameters of major cereal crops in Serbia. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 24(2): 45-49.
- O'Brien, H.E., Parrent J.L., Jackson J.A., Moncalvo J.M. and Vilgalys R. (2005).** Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 50-55.
- O'Donnell, K., Cigelnik, E. and Nirenberg, H.I. (1998).** Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90: 465-493.

O'Donnell, K., Nirenberg, H.I., Aoki, T. and Cigelnik, E. (2000). A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: Detection of additionally phylogenetically distinct species. *Mycoscience*, 41: 61-78.

O'Donnell, K., Rooney, A.P., Proctor, R.H., Brown, D.W., McCormick, S.P., Ward, T.J., et al. (2013). Phylogenetic analyses of *RPB1* and *RPB2* support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. *Fungal Genetics and Biology*, 52: 20-31.

O'Donnell, K., McCormick, S.P., Busman, M., Proctor, R.H., Ward, T.J., Doehring, G. (2018). Marasas et al. 1984 "Toxigenic *Fusarium* species: identity and mycotoxicology" revisited. *Mycologia*, 110(6): 1058-1080.

O'Donnell, K., Sutton, D.A., Rinaldi, M.G., Sarver, B.A., Balajee, S.A., Schroers, H.J. et al. (2010). Internet-accessible DNA sequence database for identifying fusaria from human and animal infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(10): 3708-3718.

Opoku, N., Back, M. and Edwards S.G. (2011). Aggressiveness of *Fusarium langsethiae* isolates towards wheat, barley and oats in an in vitro leaf assay. *Plant Breeding and Seed Science*, 64(1).DOI:[10.2478/v10129-011-0028-8](https://doi.org/10.2478/v10129-011-0028-8)

Oren, L., Ezrati, S., Cohen, D. and Sharon, A. (2003). Early events in the *Fusarium verticillioides* - maize interaction characterized by using a green fluorescent protein-expressing transgenic isolate. *Applied & environmental microbiology*, 69: 1695-1701.

Orlando, B., Grignon, G., Vitry, C., Kashefifard, K. and Valade, R. (2019). *Fusarium* species and enniatin mycotoxins in wheat, durum wheat, triticale and barley harvested in France. *Mycotoxin Research*, 35: 369-380.

Palacios, S.A., Ramirez, M.L., Cabrera Zalazar, M., Farnochi, M.C., Zappacosta, D., Chiacchiera, S.M. et al. (2011). Occurrence of *Fusarium* spp. and fumonisin in durum wheat grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 12264-12269.

Paminondas, E. and Paplomatas, K. (2004). Molecular diagnostics for soilborne fungal pathogens. *Phytopathology Mediterrenean*, 43: 213-220.

Parikka, P., Hakala, K. and Tiilikkala, K. (2011). Expected shifts in *Fusarium* species composition on cereal grain in Northern Europe due to climatic change, *Food Additives & Contaminants:PartA*,29(10):1543-1555.

Park, J., Kim, E., Shon, D. and Kim, Y. (2002). Natural co-occurrence of aflatoxin B1, fumonisin B1 and ochratoxin A in barley and corn foods from Korea. *Food Additives and Contaminants*, 19: 1073-1080.

Parry, D., Jenkinson, P. and McLeod, L. (1995). *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals – a review. *Plant Pathology*, 44: 207-238.

Pascual, C.B., Barcos, A.K.S., Mandap, J.A.L. and Ocampo, E.T.M. (2016). Fumonisin-producing *Fusarium* species causing Ear Rot of corn in the Philippines. *Philippine Journal of Crop Science (PJCS)*, 41(1): 12-21.

Pastuszak, J., Szczerba, A., Dziurka, M., Hornyák, M., Kopeć, P., Szklarczyk, M. and Płażek, A. (2021). Physiological and biochemical response to *Fusarium culmorum* infection in three durum wheat genotypes at seedling and full anthesis stage. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14): 7433.

Patausso, M., Döring, T., Garbelotto, M., Pellis, L. and Jeger, M.J. (2012). Impacts of climate change on plant disease – opinions and trend. *European Journal of Plant Pathology*, 133: 295-313.

Patiño, B., Mirete, S., González-Jaén, M.T., Mulè, G., Rodríguez, M.T., Vázquez, C. (2004). PCR detection assay of fumonisin-producing *Fusarium verticillioides* strains. *Journal of Food Protection*, 67: 1278-1283.

Pavlović, S., Ristić, D., Vučurović, I., Stevanović, M., Stojanović, S., Kuzmanović, S. and Starović, M. (2016). Morphology, pathogenicity and molecular identification of *Fusarium* spp. associated with anise seeds in Serbia. *Notulae Botanicae, Horti Agrobotanici, Cluj-Napoca*. 44: (2), 411-417.

Pavlović, S., Stojšin, V., Stojanović, S. and Starović, M. (2008). Mycopopulation in five important cultivated medicinal plants in Serbia. In: *Proceedings of the Fifth Conference in medicinal and aromatic plants of Southeast European countries, (5th CMAPSEEC)*, Brno, Czech Republic, 2-5 September, 2008. Brno, Czech Republic: Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, 101.

Peña, R. (2007). Current and future trends of wheat quality needs. In book: *Wheat production and stress environment*, 411-424.

Pfordt, A., Schiwiek, S., Rathgeb, A., Rodemann, C., Bollmann, N., Buchholz, M. et al. (2020). Occurrence, pathogenicity, and mycotoxin production of *Fusarium temperatum* in relation to other *Fusarium* species on maize in Germany. *Pathogens*, 9(11): 864.

Piacentini, K.C., Rocha, L.O., Savi, G.D., Carnielli-Queiroz, L., De Carvalho Fontes, L. and Correa, B. (2019). Assessment of toxigenic *Fusarium* species and their mycotoxins in brewing barley grains. *Toxins*, 11(1): 31.

Piacentini, K.C., Rocha, L.O., Savi, G.D., Pereira, M.V. and Scussel, V.M. (2015). Fungi and the natural occurrence of deoxynivalenol and fumonisins in malting barley (*Hordeum vulgare* L.), *Food Chemistry*, 187: 204-209.

Pleadin, J., Frece, J. and Markov, K. (2019). Mycotoxins in food and feed. *Advances In Food and Nutrition Research*, 89: 297-345.

Prabhukarthikeyan, S.R., Keerthana, U., Krishnan, N., Yadav, M.K., Parameswaran, C., Panneerselvam, P. and Rath, P.C. (2020). First report of *Fusarium proliferatum* causing sheath rot disease of rice in Eastern India. *Plant Disease*, 105(3): 704.

Pramunadipta, S., Widiastuti, A., Wibowo, A., Suga, H. and Priyatmojo, A. (2022). Development of PCR-RFLP technique for identify several members of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex and *Fusarium fujikuroi* species complex. *Plant Pathology Journal*, 38(3): 254-260.

Puri, K.D., Saucedo, E.S. and Zhong, S. (2012). Molecular characterization of *Fusarium* head blight pathogens sampled from a naturally infected disease nursery used for wheat breeding programs in China. *Plant Disease*, 96: 1280-1285.

Qiu, J., Lu, Y., He, D., Lee, Y.W., Ji, F., Xu, J. and Shi, J. (2020). *Fusarium fujikuroi* species complex associated with rice, maize, and soybean from Jiangsu province, China: phylogenetic, pathogenic, and toxigenic analysis. *Plant Disease*, 104(8): 2193-2201.

Rahjoo, V., Zad, J., Javan-Nikkhah, M., Mirzadi-Gohari, A., Okhovvat, S.M., Bihanta, M.R. et al. (2008). Morphological and molecular identification of *Fusarium* isolated from maize ears in Iran. *Journal of Plant Pathology*, 90: 463-468.

Ramirez, M.L., Oviedo, M.S., Farnochi, M.C. and Chulze, S.N. (2006). Mycological and mycotoxin survey on wheat during a non epidemic FHB year in Argentina. In *Proceeding of 9th European Fusarium Seminar*. September 12e22, (pp.34). Wageningen, The Netherlands.

Ranieri, R. (2015). Geography of the durum wheat crop. *Pastaria International*, 6: 24-36.

Regina, S.D., Sreenivasa, M.Y. and Janardhana, G.R. (2007). High incidence of *Fusarium verticillioides* in animal and poultry feed mixtures produced in Karnataka, India. *Plant Pathology Journal*, 6: 174-178.

Reynoso, M.M., Chulze, S.N., Zeller, K.A., Torres, A.M. and Leslie, J.F. (2009). Genetic structure of *Fusarium verticillioides* populations isolated from maize in Argentina. *European Journal of Plant Pathology*, 123(2): 207-215.

Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O. and Vismer, H.F. (2002). Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 2101-2105.

Ristić, D., Pavlović, S., Trkulja, N. Aćimović, M., Pfaf-Dolovac, E., Dolovac, N. and Starović, M. (2015). Morphological and molecular identification of *Fusarium subglutinans*, pathogen of anise seed in Serbia, Sixth International Scientific Symposium "Agrosym 2015" At: Jahorina, Bosnia and Herzegovina.

Rocha, L.O., Barroso, V.M., Andrade, L.J., Pereira, G.H.A., Ferreira-Castro, F.L., Duarte, A.P. et al. (2015). *FUM* gene expression profile and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* inoculated in *Bt* and non-*Bt* maize. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1503.

Ross, P.F., Nelson, P.E., Richard, J.L., Osweiler, G.D., Rice, L.G., Plattner, R.D. and Wilson, T.M. (1990). Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates associated with equine leukoencephalomalacia and a pulmonary edema syndrome in swine. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 3225-3226.

RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL.

Saharan, M.S. (2010). Detection of genetic variation among *Fusarium* spp. collected from wheat growing regions of India. *Indian Phytopathology*, 63(2): 149-153.

Sakr, N. (2019). Variation in aggressiveness of *Fusarium* head blight species towards barley plants determined using three in vitro assays. *Pakistan Journal of Phytopathology*, 31(1): 19-33.

Saleh, A.A., Sharafaddin, A.H., El Komy, M.H., Ibrahim, Y.E. and Hamad, Y.K. (2021). Molecular and physiological characterization of *Fusarium* strains associated with different diseases in date palm. *PLoS ONE* 16(7): e0254170.

Salgado, J.D., Madden, L.V. and Paul, P.A. (2014). Efficacy and economics of integrating in-field and harvesting strategies to manage *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Disease*, 98: 1407-1421.

Samapundo, S., Devlieghere, F., De Meulenaer, B. and Debevere, J. (2005). Effect of water activity and temperature on growth and the relationship between fumonisin production and the radial growth of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* on corn. *Journal of Food Protection*, 68(5): 1054-1059.

Samson, R.A., Hoekstra, E.S. and Frisvad, J.C. (2004). Introduction to food and airborne fungi. 7th ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures.

Samuels, G.J., Nirenberg, H.I. and Seifert, K.A. (2001). Perithecial species of *Fusarium*. In: Summerell, B. A., Leslie, J. F., Backhouse, D., Bryden, W. L., Burgess, L. W. (eds). *Fusarium: Paul E. Nelson memorial symposium*. St. Paul, Minnesota: APS Press, 1-14.

Sandoval-Denis, M., Guarnaccia, V., Polizzi, G. and Crous, P.W. (2018a). Symptomatic citrus trees reveal a new pathogenic lineage in *Fusarium* and two new *Neocosmospora* species. *Persoonia*, 40: 1-25.

Sandoval-Denis, M., Swart, W.J. and Crous, P.W. (2018b). New *Fusarium* species from the Kruger National Park, South Africa. *Mycology*, 34: 63-92.

Savić, I., Stanković, S., Nikolić, M., Kandić, V. and Jauković, M.(2020). The presence of toxigenic genera of fungi and their mycotoxins in durum wheat in Serbia during 2018 and 2019, XI International Scientific Agriculture Symposium "Agrosym 2020", Jahorina, October 8-9, 2020 - Book of Abstracts, 262.

Savić, I., Nikolić, M., Nikolić, A., Vico, A., Mladenović-Drinić., Duduk, N. and Stanković, S. (2021). The morfological and molecular identification of *Fusarium verticillioides* causing fusariosis on wheat grain. Genetika, 53(2): 641-649.

Savić, I., Nikolić, M., Nikolić, A., Kandić, V., Vico, I., Duduk, N. and Stanković, S. (2022). First report of *Fusarium verticillioides* causing fusariosis on triticales grain in Serbia. Plant Disease, 106(3): 1071.

Schmale III, D.G. and Bergstrom, G.C. (2003). Fusarium head blight in wheat. The Plant health instructor. DOI:10.1094/PHI-I-2003-0612-01,Updated 2010.

Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A. 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 USA*, 109, 6241–6246
Bruns, T. D. (2001). ITS reality. *Inoculum*, 52: 2-3.

Schollenberger, M., Muller, H.M., Ruffle, M., Suchy, S., Plank, S. and Drochner, W. (2006). Natural occurrence of 16 *Fusarium* toxins in grains and feedstuffs of plant origin from Germany. *Mycopathologia*, 161: 43-52.

Seifert, K.A. and Lavesque, C.A. (2004). Phylogeny and molecular diagnosis of mycotoxigenic fungi. *European Journal of Plant Pathology*, 110(5): 449-471.

Sen, B. and Asan, A. (2009). Fungal flora in indoor and outdoor air of different residential houses in Tekirdag City (Turkey): seasonal distribution and relationship with climatic factors. *Environmental Monitoring and Assessment*, 151: 209-219.

Shah, L., Ali, A., Yahya, M., Zhu, Y., Wang, S., Si, H. et al. (2017). Integrated control of fusarium head blight and deoxynivalenol mycotoxin in wheat. *Plant Pathology*, 67(3): 532-548.

Shi, W., Tan, Y., Wang, S., Gardiner, D.M., De Saeger, S., Liao, Y. et al. (2016). Mycotoxigenic potentials of *Fusarium* species in various culture matrices revealed by mycotoxin profiling. *Toxins*, 9(1): 6.

Shin, J.H., Han, J.H., Lee, J.K. and Kim, K.S. (2014). Characterization of the maize Stalk Rot pathogens *Fusarium subglutinans* and *F. temperatum* and the effect of fungicides on their mycelial growth and colony formation. *Plant Pathology Journal*, 30(4): 397-406.

Stack, R.W. (2003). History of *Fusarium* head blight of emphasis on North America. In: Leonard, K.J., Bushnell, W.R. (eds.), *Fusarium* head blight of wheat and barley. APS Press, St. Paul, MN, pp 1-34.

Stanković, S., Lević, J., Ivanović, D., Krnjaja, V., Stanković, G. and Tančić, S. (2012). Fumonisin B1 and its co-occurrence with other fusariotoxins in naturally-contaminated wheat grain. *Food Control*, 23: 384-388.

Stanković, S., Lević, J., Krnjaja, V., Bočarov-Stančić, A., Tančić, S. and Kovačević, T. (2007). Frequency of toxigenic *Fusarium* species and fusariotoxins in wheat grain in Serbia. *Matica Srpska Proceedings for Nature Sciences*, 113: 93-102.

Stanković, S., Lević, J., Petrović, T. and Krnjaja, V. (2008). Mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* and *Fusarium verticillioides* isolated from hops in Serbia. *Journal of Plant Pathology*, 90 (3): 58.

Stanković, S., Lević, J., Petrović, T. and Moretti, A. (2005). The first report on *Fusarium proliferatum* causing onion and garlic bulbs and root rot in Serbia. Programme & Abstract, pp 168, 57th International Symposium on Crop Protection, Gent, Belgium, May 10, 2005.

STATISTA (2021). Dostupno na stranici:
<https://www.statista.com/statistics/1094065/total-global-wheat-consumption-by-country/>

Steenkamp, E., Britz, H., Coutinho, T., Wingfield, B., Marasas, W. and Wingfield, M. (2000). Molecular characterization of *Fusarium subglutinans* associated with mango malformation. *Molecular plant pathology*, 1(3): 187-193.

Stenglein, S.A., Dinolfo, M.I., Bongiorno, F. and Moreno, M.V. (2012). Response of wheat (*Triticum* spp.) and barley (*Hordeum vulgare*) to *Fusarium poae*. *Agrociencia*, 46(3): 299-306.

Stępień, Ł., Koczyk, G. and Waśkiewicz, A. (2011). Genetic and phenotypic variation of *Fusarium proliferatum* isolates from different host species. *Journal of Applied Genetics*, 52: 487-496.

Stoev, S.D. (2013). Food safety and increasing hazard of mycotoxin occurrence in foods and feeds. *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*, 53: 887-901.

Storer, A.J., Gordon, T.R. and Clark, S.L. (1998). Association of the pitch canker fungus, *Fusarium subglutinans* f.sp. *pini*, with Monterey pine seeds and seedlings in California, *Plant Pathology*, 47: 649-656.

Sudakin, D.L. (2003). Trichothecenes in the environment: Relevance to human health. *Toxicology Letters*, 143: 97-107.

Sun, Z., Xu, J., Wang, G., Song, A., Li, C. and Zheng, S. (2020). Hydrothermal fabrication of rectorite based biocomposite modified by chitosan derived carbon nanoparticles as efficient mycotoxins adsorbents. *Applied Clay Science*, 184: 105373.

Szécsi, Á., Szekeres, A., Bartók, T., Oros, G., Bartók, M. and Mesterházy, Á. (2010). Fumonisin B-producing capacity of Hungarian *Fusarium verticillioides* isolates. *World Mycotoxin Journal*, 3: 67-76.

Takač, V., Mikić, S., Mirosavljević, M., Momčilović, V., Trkulja, D., Kondić-Špika, A. and Brbaklić, Lj. (2019). Ocena genetičke razlikosti genotipova tvrde pšenice prema karakteristikama koje je definisao UPOV. *Ratarstvo i Povrtarstvo*, 56(3): 97-102.

Tamura, K., Stecher, G. and Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11, *Molecular Biology and Evolution*, 38 (7): 3022-3027.

Tančić, S., Stanković, S., Lević, J., Krnjaja, V. and Vukojević, J. (2012). Divercity of the *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* isolates according to their fumonisin B1 potential and origin. *Genetika*, 44(1): 163-176.

Tančić, S., Stanković, S. i Lević, J. (2009). Varijabilnost patogenih svojstava *Fusarium* spp. poreklom iz zrna kukuruza i pšenice. *Pesticidi i Fitomedicina*, 24(4): 259-269.

Tekauz, A., Mitchell Fetch, J.W., Rossnagel, B.G. and Savard, M.E. (2008). Progress in assessing the impact of *Fusarium* head blight on oat in western Canada and screening of *Avena germplasm* for resistance. *Cereal Research Communications*, 36: 49-56.

Tekle, S., Skinnnes, H. and Bjørnstad, A. (2013). The germination problem of oat seed lots affected by *Fusarium* head blight. *European Journal of Plant Pathology*, 135: 147-158.

Tesso, T., Claffin, L.E. and Tuinstra, M.R. (2004). Estimation of combining ability for resistance to *Fusarium* stalk rot in grain sorghum. *Crop Science*, 44: 1195-1199.

Thomas, B., Audonneau, N.C., Machouart, M. and Debourgogne, A. (2019). Molecular identification of *Fusarium* species complexes: Which gene and which database to choose in clinical practice? *Journal de Mycologie Médicale*, 29(1): 56-58.

Tian, Y., Tan, Y.L., Liu, N., Liao, Y.C., Sun, C.P., Wang, S.X. and Wu, A.B. (2016). Functional agents to biologically control deoxynivalenol contamination in cereal *grains*. *Frontiers in Microbiology*, 7: 395.

Tufan, F., Uçarlı, C., Tunalı, B. and Gürel, F. (2017). Analysis of early events in barley (*Hordeum vulgare* L.) roots in response to *Fusarium culmorum* infection. *European Journal of Plant Pathology*, 148: 343-355.

Turkington, K., Petran, A., Yonow, T. and Kriticos, D.J. (2014). *Fusarium graminearum*, Harvest choice pest geography. St. Paul, MN: InSTePP-Harvest Choice.

Visentin, I., Tamietti, G., Valentino, D., Portis, E., Karlovsky, P., Moretti, A. and Cardinale, F. (2009). The ITS region as a taxonomic discriminator between *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum*. *Mycological Research*, 113: 1137-1145.

Voss, K.A., Riley, R.T. and Gelineau-van Waes, J. (2011). Fumonisin. In Gupta, R.C. (Ed.), *Reproductive and developmental toxicology* (pp. 725-737). United States of America: Elsevier Academic Press.

Wagacha, J.M. and Muthomi, J.W. (2007). *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection*, 26(7): 877-885.

Watanabe, M., Yonezawa, T., Lee, K., Kumagai, S., Sugita-Konishi, Y., Goto, K. and Hara-Kudo, Y. (2011). Molecular phylogeny of the higher and lower taxonomy of the *Fusarium* genus and differences in the evolutionary histories of multiple genes, *BMC evolutionary biology*, 11: 322-329.

Wegulo, S.N., Baenziger, P.S., Hernandez Nopsa, J., Bockus, W.W. and Hallen-Adams, H. (2015). Management of *Fusarium* head blight of wheat and barley, *Crop Protection*, 73: 100-107.

Wegulo, S.N., Bockus, W.W., Nopsa, J.H., De Wolf, E.D., Eskridge, K.M., Peiris, K.H.S. and Dowell, F.E. (2011). Effects of integrating cultivar resistance and fungicide application on fusarium head blight and deoxynivalenol in winter wheat. *Plant Disease*, 95: 554-560.

White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Tayler, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for polygenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (Eds.) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego CA. Academic Press. pp. 315-322.

Widiastuti, A., Karlina, M.L., Dhanti, K.R., Chinta, Y.D., Joko, T., Suryanti and Wibowo, A. (2020). Morphological and molecular identification of *Fusarium* spp. isolated from maize kernels in Java and Lombok, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(6): 2741-2750.

Wollenweber, H. and Reinking, O.A. (1925). Aliquot *Fusaria tropicalia*, nova velrevisa. *Phytopathology*, 15: 155-169.

Wong, J.Y. and Jeffries, P. (2006). Diversity of pathogenic *Fusarium* populations associated with asparagus roots in decline soils in Spain and the UK. *Plant Pathology*, 55(3): 331-342.

Wu, F. (2007). Measuring the economic impacts of *Fusarium* toxins in animal feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 137: 363-374.

Yadav, K., Sharma, S.S. and Khokhar, M.K. (2022). Molecular characterization and morphological variation of various *Fusarium* spp. associated with post flowering Stalk Rot of maize in India. Research square, Preprint, dostupno na DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1704803/v1>.

Yilmaz, N., Sandoval-Denis, M., Lombard, L., Wingfield, B.D. and Crous, P.W. (2021). Redefining species limits in the *Fusariumfujikuroi* species complex. *Persoonia*, 46: 129-162.

Yli-Mattila, T. (2010). Ecology and evolution of toxigenic *Fusarium* species in cereals in Northern Europe and Asia. *Journal of Plant Pathology*, 92: 7-18.

Yli-Mattila, T., Paavanen-Huhtala, S., Bulat, S.A., Alekhina, I.A. and Nirenberg, H.I. (2002). Molecular, morphological and phylogenetic analysis of the *Fusarium avenaceum* / *F. arthrosporioides* / *F. tricinctum* species complex—a polyphasic approach. *Mycological Research*, 106(6): 655-669.

Yli-Mattila, T., Paavanen-Huhtala, S., Jestoi, M., Parikka, P., Hietaniemi, V., Gagkaeva, T. et al. (2008). Real-time PCR detection and quantification of *Fusarium poae*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae* in cereal grains in Finland and Russia. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 41: 243-260.

Yurchenko, E.G., Savchuk, N.V., Porotikova, E.V. and Vinogradova, S.V. (2020). First report of Grapevine (*Vitis* sp.) cluster blight caused by *Fusarium proliferatum* in Russia, *Plant Disease*, 104(3): 991.

Zainudin, N., Hamzah, F., Kusai, N., Zambri, N. and Salleh, S. (2017). Characterization and pathogenicity of *Fusarium proliferatum* and *Fusarium verticillioides*, causal agents of *Fusarium* ear rot of corn. *Turkish Journal of Biology*, 41(1): 220-230.

Zidan, L., Jawdat, D. and Naffaa, W. (2020). Morphology, pathogenicity and molecular identification of some *Fusarium* species within the *Gibberella fujikuroi* species complex from wheat in Syria. *Current Research in Environmental & Applied Mycology (Journal of Fungal Biology)*, 10(1): 156-166.

8. Biografija

Master inženjer poljoprivrede Iva Savić, rođena je 06.09.1988. godine u Beogradu, Republika Srbija. Osnovne studije na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, Odsek Fitomedicina završila je 2011. godine, a master studije na istom fakultetu i odseku završila je 2013. godine.

Doktorske studije upisala je školske 2014/2015 godine na istom fakultetu, na Odseku za Fitomedicinu, Katedri za Fitopatologiju. Nakon upisa na doktorske studije, svoj istraživački rad obavlja u Institutu za kukuruz „Zemun Polje“, u Laboratoriji za fitopatologiju, gde je i zaposlena. Od aprila 2015. godine svoj istraživački rad nastavlja u okviru projekta: „Redukcija toksigenih vrsta gljiva roda *Fusarium* i njihovih mikotoksina u proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane na bazi žita“ (evidencioni broj projekta TR 31023), koji je podržan od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

U toku dosadašnjeg istraživačkog rada, u saradnji sa drugim autorima Iva Savić je objavila ili saopštila ukupno 35 radova. Član je Društva za zaštitu bilja Srbije i Društva genetičara Srbije.

9. Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Iva Savić

Broj indeksa: FM 14/42

Izjavljujem

Da je doktorska disertacija pod naslovom:

Karakterizacija vrsta iz *Fusarium fujikuroi* kompleksa patogeno zrna strnih žita
u Srbiji

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora

U Beogradu, _____

10. Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Iva Savić

Broj indeksa: FM 14/42

Studijski program: Biotehničke nauke, modul-Fitomedicina

Naslov rada: Karakterizacija vrsta iz *Fusarium fujikuroi* kompleksa patogenih zrna strnih žita u Srbiji

Mentor: dr Nataša Duduk

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predala radi pohranjivanja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora

U Beogradu, _____

11. Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Karakterizacija vrsta iz *Fusarium fujikuroi* kompleksa patogenih zrna strnih žita u Srbiji

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sam sa svim priložima predala u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
- 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)**
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

Potpis autora

U Beogradu, _____
