

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Београд-Земун
Датум: 29.03.2024.

Предмет: Извештај комисије за оцену докторске дисертације Уроша Д. Војиновића, мастер инжењера пољопривреде

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду број 32/26-6.1. од 27.03.2024. године, именована је Комисија за оцену докторске дисертације Уроша Д. Војиновића, мастер инжењера пољопривреде, под насловом: „Осетљивост популација *Erysiphe necator* на фунгициде различитих механизма деловања у Србији“. На основу прегледа и анализе достављене докторске дисертације, Комисија у саставу др Милан Ивановић, редовни професор, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет, др Емил Рекановић, научни саветник, Институт за пестициде и заштиту животне средине, Београд, др Славица Вуковић, редовни професор, Универзитет у Новом Саду – Пољопривредни факултет, др Горан Алексић, научни саветник, Институт за заштиту биља и животну средину, Београд, др Недељко Латиновић, редовни професор, Универзитет Црне Горе – Биотехнички факултет, Подгорица, подноси Наставно-научном већу Пољопривредног факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Основни подаци о кандидату и дисертацији

Основни подаци о кандидату. Мастер инж. Урош Д. Војиновић, рођен је 03.12.1993. године у Аранђеловцу. Основну школу и гимназију завршио је у родном граду. Основне академске студије на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, одсек Биљна производња, модул Фитомедицина, уписао је школске 2012/2013. године, а дипломирао 28.09.2016. године са просечном оценом 9,59 и оценом 10 на дипломског испиту. Школске 2016/2017. године уписао је мастер академске студије на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду на одсеку за Фитомедицину. Мастер рад под називом „Модел заштите боровнице од проузроковача сиве трулежи (*Botrytis cinerea*)“, одбранио је 26.09.2017. године са оценом 10 и оствареном просечном оценом током студија 9,86. Докторске академске студије на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, одсек Пољопривредне науке, модул Фитомедицина, уписао је школске 2017/2018. године. Све испите предвиђене програмом студија положио је са просечном оценом 10 (десет).

Током 2016. године обавио је двомесечну праксу у компанији Sagea SR Centro di Saggio s.r.l. у Алби (Италија), где је активно учествовао у развојним студијама и огледима регистрације пестицида, у складу са GEP i GLP методологијом. Кандидат је био стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије школске 2013/14, 2014/15 и 2016/17. године и Фонда за младе таленте Министарства омладине и спорта Републике Србије (стипендија „Доситеја“), школске 2015/2016. године.

Школске 2015/2016. године, награђен је за изузетан успех током студија на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду.

Од школске 2017/2018. године, учествује у извођењу вежби из два обавезна предмета на Студијском програму Фитомедицина, Општа фитофармација и Фитофармација-фунгициди и једног изборног предмета Основни резистентности на пестициде, а у школској 2020/2021 изводио је вежбе из предмета Фитофармација-Хербициди и Основи селективности и фитотоксичности пестицида. Од маја 2018. године до марта 2020. године, као стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије био је ангажован на пројекту „Развој интегрисаних система управљања штетним организмима у биљној производњи са циљем превазилажења резистентности и унапређења квалитета и безбедности хране“ (ев. бр. ИИИ46008). У звање и на радно место асистент за ужу научну област Пестициди изабран је 2020. године на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду.

Од 2018. године активно учествује у извођењу огледа регистрације и развоја фунгицида. Од 2019. до 2022. године учествовао је у међународном пројекту „Harmonization and Innovation in PhD Study Programs for Plant Health in Sustainable Agriculture – HarIsa“, као члан једне од радних група у оквиру пројекта. У оквиру програма BTSF (Better Training for Safer Food), током 2022. и 2023. године учествовао је на два тренинга: „Training course on Food Hygiene at Primary Production - Plant Products“ који је одржан 20-24. јуна 2022. године у Болоњи и „Training course on Evaluation and Authorisation of PPPs –TS07 Assessment of Efficacy of Plant Protection Products“ који је одржан у Торину 21-23. јуна 2023. године. Од новембра 2021. године обавља функцију секретара Катедре за пестициде и хербологију. Од 2022. године члан је Савета Пољопривредног факултета из реда сарадника. Члан је Друштва за заштиту биља Србије. Кандидат активно говори енглески и италијански језик, а служи се и француским језиком. До сада је објавио 24 библиографске јединице, од којих су 4 у часописима са SCI листе.

Основни подаци о дисертацији. Докторска дисертација Уроша Д. Војиновића, мастер инжењера пољопривреде, под насловом „Осетљивост популација *Erysiphe necator* на фунгициде различитих механизма деловања у Србији” написана је у складу са Упутством за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду, као и у складу са пријавом теме која је одобрена од стране Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду и Већа научних области биотехничких наука Универзитета у Београду. Докторска дисертација садржи: насловну страну на српском и енглеском језику, информације о менторима и члановима Комисије, сажетак на српском и енглеском језику, садржај и текст дисертације организован по поглављима. Дисертација је написана на укупно 220 страна писаног текста и укључује 41 табелу, 34 графикона и 18 оригиналних фотографија, а цитирано је укупно 265 литературних извора.

Докторска дисертација садржи осам основних поглавља: Увод (стр. 1), Преглед литературе (стр. 4-45), Циљеви истраживања (стр. 46), Материјал и методе (стр. 47-65), Резултати (стр. 66-135), Дискусија (стр. 136-177), Закључак (стр. 178-181), Литература (стр. 182- 199). Наведена поглавља садрже више потпоглавља. На крају текста дисертације налазе се Прилози (стр. 200-215), Биографија (стр. 216), Изјава о ауторству (стр. 217), Изјава о истовестности штампане и електронске верзије докторске дисертације (стр. 218) и Изјава о коришћењу (стр. 219-220).

2. Предмет и циљ дисертације

Винова лоза је подложна нападу већег броја патогена микозне, вирусне и бактериозне природе, који у мањој или већој мери могу редуковати принос и квалитет грозђа, а један од економски најзначајнијих је гљива *E. necator*, проузроковач пепелнице винове лозе. Ово је врло деструктиван патоген, и уколико се не спроведе адекватна хемијска заштита, може довести до изражених губитака. У већини екосистема широм света, патоген презимљава у облику казмотеција у којима се образују аскуси са аскоспорама које врше примарне инфекције, најчешће у периоду између пуцања пупољака и цветања. Примарне инфекције представљају окидач за ширење патогена, односно појаву секундарних инфекција, које се касније остварују конидијама. Највеће штете манифестују се на бобицама винове лозе, које су најосетљивије током заметања, односно непосредно након фенофаза прецветавања.

Савремена заштита винове лозе темељи се на принципима интегралне заштите, али је употреба фунгицида главна и најефикаснија мера у сузбијању *E. necator*. Обично се годишње практикује примена 6-9 третирања, најчешће од фенофаза 4-5 развијених листова до фенофаза затварања гроздова (ВВСН 14-79). Редуковање примарног инокулума и спречавање примарних инфекција су круцијални сегменти успешне заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, а у ту сврху најчешће се користе специфични фунгициди са системичним деловањем, попут: DMI фунгицида (тебуконазол, дифеноконазол, пенконазол, мефентрифлуконазол), амина-морфолина (спироксамин), QoI фунгицида (крезоксим-метил, трифлуксистробин, пираклостробин), SDHI фунгицида (флукаспироксад, флуопирам, боскалид), азанафталена (квикосифен и проквиназид) и арил-фенил кетона (метрафенон, пириофенон). Осим системичних, у програмима заштите винове лозе користе се и фунгициди са протективним (контактним) деловањем, као што су сумпор и мептил-динокап.

Групе системичних фунгицида које се најчешће користе у програмима заштите винове лозе од *E. necator*, према FRAC-у, сврстане су класу средње до високо ризичних са аспекта развоја резистентности. Бројна истраживања широм света указују да је дошло до промена у осетљивости популација овог патогена и развоја резистентности, нарочито на QoI, DMI, SDHI фунгициде, азанафталене и фунгициде који припадају групи арил-фенил кетона. У Србији, резултата и података о ефикасности фунгицида у сузбијању проузроковача пепелнице готово да нема, а последњи резултати датирају с почетка 21. века.

Узимајући у обзир да се поједине критичне групе фунгицида експлоатишу дужи низ година у нашој земљи, а да недостају подаци о њиховој ефикасности, као и осетљивости популација *E. necator* на њих, основни циљеви ове докторске дисертације били су оријентисани ка испитивању осетљивости популација овог патогена на фунгициде из различитих група, применом класичних и молекуларних метода. У оквиру тога, циљеви су били усмерени првенствено ка извођењу *in vivo* биотестова и *real-time* PCR идентификацији резистентности популација овог патогена на фунгициде из групе стробилурина (QoI фунгициди) и триазола (DMI фунгициди) како би се потврдиле мутације G143A, односно Y136F, карактеристичне за резистентне популације *E. necator*. У том контексту, идентификација резистентних популација *E. necator* на QoI и DMI фунгициде детекцијом карактеристичних мутација, имала је за циљ да утврди колико су мутације распрострањене у самој популацији патогена, али и на нивоу Србије. Један од циљева био је да се утврди и осетљивост популација проузроковача пепелнице на неке од активних супстанци које припадају релативно новијим групама фунгицида. С обзиром на то да је у условима практичне примене било примећено смањење ефикасности одређених фунгицида у

сузбијању *E. necator*, испитивањем ефикасности фунгицида различитих механизма деловања, требало је да се дође до одговора, који фунгициди могу, а који не би требали да буду позиционирани у будућим програмима заштите винове лозе. Такође, резултати испитивања компаративне ефикасности треба да укажу да ли је дошло до развоја резистентности у пракси и да ли постоји ризик од развоја унакрсне резистентности у оквиру појединих група фунгицида. Један од циљева био је и да се испитају различити модели заштите винове лозе од проузроковача пепелнице како би се оптимизовали и унапредили програми заштите, како са аспекта адекватног позиционирања фунгицида у тим програмима, тако и са економског аспекта, у смислу редуковања броја третирања и употребе економичнијих фунгицида.

3. Основне хипотезе од којих се полазило у истраживању

Основне хипотезе од којих се полазило у оквиру ове докторске дисертације биле су:

- Гљива *Erysiphe necator*, проузроковач пепелнице винове лозе, економски је веома значајан патоген, који у годинама повољним за његов развој, у великој мери отежава заштиту, те уколико се не примене високо ефикасни фунгициди, губици у производњи могу бити огромни.
- *E. necator* је, према FRAC-у, сврстан у групу патогена са средњим до високим ризиком од развоја резистентности. С обзиром на то да се за његово сузбијање дужи низ година претежно користе системични фунгициди са специфичним механизмима деловања, а који су у групи високо ризичних по питању развоја резистентности, претпоставља се да је могло доћи до промене у осетљивости популација овог патогена у Србији. Ова хипотеза се поткрепљује чињеницом да у нашој земљи као ни у земљама ближег окружења, дужи временски период нема одговарајућих података о ефектима фунгицида у сузбијању овог патогена.
- Будући да је у пракси уочен изостанак ефикасности након примене одређених фунгицида, који су се до скоро успешно користили у заштити винове лозе од проузроковача пепелнице, постоји оправдана сумња да је дошло до развоја резистентности појединих популација *E. necator* у нашој земљи.
- У пољским огледима, ефикасност фунгицида новије генерације се значајно разликује од фунгицида који су знатно дуже у употреби.
- Применом тестова ефикасности, *in vivo* (биотест са лисним дисковима) и молекуларних метода (real-time PCR) утврдиће се разлике у осетљивости популација патогена на различите фунгициде и потенцијално детектовати резистентност на QoI фунгициде.

Све наведене хипотезе су научно потврђене. Током истраживања, у појединим годинама, интензитет обољења у контролним варијантама, као и варијантама са одређеним фунгицидима, био је изузетно висок, утичући значајно на квалитет и принос грожђа. Потврђена је резистентност популација *E. necator* на QoI и DMI фунгициде применом класичних и молекуларних метода. Применом класичних метода потврђена је резистентност популација овог патогена на фунгициде из групе азанафталена и арил-фенил кетона. Фунгициди новије генерације, пре свега SDHI фунгициди (флуксапироксад и флуопирам), затим цифлуфенамид и мефентрифлуконазол, испољили су значајно већу

ефикасност у односу на QoI и DMI фунгициде. С друге стране, на појединим локалитетима утврђена је ниска ефикасност релативно новијих фунгицида, попут метрафенона и пириофенона.

4. Кратак опис садржаја дисертације

Увод. У уводном поглављу укратко је указано на економски значај винове лозе у свету и у нашој земљи. Истакнут је значај *E. necator* у виноградарској производњи, са акцентом на директним и индиректним штетама које овај патоген узрокује. Изнети су основни подаци о биологији патогена, мерама заштите, са посебним освртом на примену фунгицида. Наведени су најзначајнији фунгициди који се користе за сузбијање проузроковача пепелнице. Скренута је пажња на појаву резистентних популација *E. necator* у свету, на фунгициде који се користе дужи низ година у заштити винове лозе, али и на фунгициде релативно новијег датума. Указано је на потребу испитивања осетљивости популација овог патогена на фунгициде који чине окосницу заштите винове лозе у нашој земљи, с обзиром на то да су последња истраживања овог типа рађена пре више од 20 година.

Преглед литературе. У овом поглављу које се састоји од седам потпоглавља, приказани су доступни литературни подаци из области која је предмет проучавања докторске дисертације. У првом потпоглављу *Erysiphe necator – таксономска припадност и порекло* дати су основни подаци о класификацији овог патогена у оквиру раздела Ascomycota, као и о његовом пореклу. У другом потпоглављу *Домаћини, распрострањеност и економски значај* приказани су најзначајнији домаћини из фамилије Vitaceae, и наведене најосетљивије сорте које припадају врсти *Vitis vinifera*. Указано је на широку распрострањеност и штетност *E. necator*, која се манифестује губицима у приносу и драстичном паду квалитета винског и стоног грожда. Поред директних, истакнуте су индиректне штете од овог патогена. У трећем потпоглављу *Симптоми обољења* описани су најзначајнији симптоми обољења на листовима, гроздовима (бобицама) и младарима. У овом потпоглављу наводи се да су бобице најосетљивије током ранијих фаза развића, тј. у периоду заметања и формирања (2 mm у пречнику), а да се онтогенетска отпорност испољава 3-4 недеље након цветања, док су листови најосетљивији када су развијени до половине од укупне величине. Четврто потпоглавље *Епидемиологија* обухвата два поднаслова. У склопу првог поднаслова *Казмотеције као извор примарног инокулума* указано је на значај примарних инфекција у циклусу развоја патогена. Акцент је стављен на улогу казмотеција, односно оне су означене као најважнији примарни извор инокулума. Истиче се да патоген може продуковати огроман број казмотеција по хектару, а да се у оквиру њих образују аспуси са аскоспорама које врше примарне инфекције, најчешће у периоду између пуцања пупољака и цветања винове лозе. Кандидат, позивајући се на литературу, наводи да је за ослобађање аскоспора непоходно да падне најмање 2,5 mm кише при температури изнад 10 °C и периодом влажења дужим од 2,5 часова. Оптимална температура за остваривање инфекције аскоспорама креће се у распону од 20 до 25 °C, док ниске просечне температуре и већа количина падавина током пролећа не погодују развоју примарних инфекција. У оквиру другог поднаслова *Конидије као извор примарног и секундарног инокулума* указано је на значај конидија у епидемиологији *E. necator*. Наводи се да у подручјима са релативно благом зимом, патоген може презимети у облику конидија, али да у нашим агроколошким условима, конидије имају већи значај у секундарним инфекцијама. Наиме, након примарних инфекција, конидије се шире ветром на површинска ткива винове лозе и изазивају секундарне инфекције. Оптимални услови за инфекцију

конидијама подразумевају температуре између 20 и 27 °C, брзину ветра изнад 2 m/s, релативну влажност између 47 и 90% и услове слабе дифузне светлости. У петом потпоглављу **Можућност сузбијања *E. necator*** дат је приказ најважнијих мера сузбијања овог патогена. Ово потпоглавље подељено је на шест подналова. У склопу првог подналова *Селекција отпорних сорти* указано је да потенцијал за стварање отпорних сорти лежи у генетици других врста рода *Vitis*, попут *V. labrusca*, *V. ripestris*, *V. rotundifolia*, *V. riparia* и др. Наводи се да би укрштање *V. vinifera* и *V. labrusca* могло да резултира стварању отпорних, али истовремено и комерцијално перспективних сорти. Други поднаслов *Агротехничке и ампелотехничке (превентивне) мере* обухвата приказ најзначајнијих мера превентивне заштите којима се може смањити интензитет појаве симптома пепелнице. Неке од тих мера су: подизање винограда на проветреним локацијама, оријентисање редова према сунцу, зелена резидба и смањење бујности, избалансирано ђубрење азотом. У оквиру трећег подналова *Биолошке мере* приказан је биофунгицидни потенцијал гљиве *Ampelomyces quisqualis*, затим квасаца из рода *Tilletiopsis*, етарских и минералних уља, као и неких неорганских соли у заштити винове лозе од проузроковача пепелнице. У четвртном поднаслову, *Хемијске мере*, указује се на значај примене фунгицида у сузбијању *E. necator*. Кандидат наводи да је сузбијање примарних инфекција и правовремена примена високо ефикасних фунгицида кључан сегмент успешне заштите винове лозе од овог патогена. Истакнуто је да се годишње практикује примена 6-9 третирања, и то од фенофазе 4-6 формираних листова па до затварања грозда, у временском интервалу 10-14 дана. У оквиру овог подналова, истакнути су и најзначајнији тзв. „multi-site“ (сумпор) и „single-site“ (DMI, QoI, SDHI, азанафталени и арил-фенил кетони) фунгициди који се користе у сузбијању проузроковача пепелнице. Пети поднаслов *Модел (програми) заштите винове лозе од проузроковача пепелнице* обухвата исцрпан приказ различитих модела (програма) заштите из доступних литературних извора. У оквиру шестог подналова *Модел за прогнозу појаве *E. necator* и прецизно одређивање интервала примене фунгицида* истакнути су најважнији модели који се користе у свету за предвиђање појаве овог патогена и одређивање интервала примене фунгицида у циљу оптимизације програма заштите винове лозе. У шестом потпоглављу **Својства фунгицида од значаја за сузбијање *E. necator*** дат је приказ најважнијих група фунгицида и активних супстанци које се користе за сузбијање овог патогена. Ово потпоглавље садржи девет подналова: *Елементарни сумпор*, *Динитрофенил-кродонати* (метил-динокап), *QoI фунгициди* (пираклостробин, крезоксиметил и трифлуксистробин), *SDHI фунгициди* (боскалид, флуопирам и флуксапироксад), *DMI фунгициди* (тебуконазол, пенконазол, миклобутанил, дифеноконазол и мефентрифлуконазол), *Спирокетал-амини* (спироксамин), *Азанафталени* (квиноксифен и проквиназид), *Арил-фенил кетони* (приказани метрафенон и пириофенон) и *Фенилацетамиди* (цифлуфенамид). У сваком од подналова обухваћена су најзначајнија физичко-хемијских својства, фитотоксичност, механизми, начини и спектар деловања приказаних фунгицида. У седмом потпоглављу **Развој резистентности *E. necator* на различите фунгициде** описани су механизми и типови, као и начини за детекцију резистентности код изолата *E. necator*. Ово потпоглавље обухвата пет подналова. У склопу првог подналова *Резистентност *E. necator* на QoI фунгициде* наглашена је широка дистрибуција резистентних популација патогена на ове фунгициде широм света. Кандидат наводи да је G143A најзначајнија мутација која води ка развоју јаке и стабилне резистентности код популација *E. necator*. Ова мутација појављује се у оквиру цитохром *b* гена и може се детектовати применом молекуларних метода, односно real-time PCR технике, коришћењем

специфичних прајмера. За потврду резистентности и утврђивање постојања укрштене резистентности између QoI фунгицида, могу се спровести и *in vivo* биотестови са лисним дисковима. Други поднаслов *Резистентност E. necator* на DMI фунгициде обухвата приказ најзначајнијих механизма резистентности гљива на ове фунгициде. Код резистентних популација *E. necator* на DMI фунгициде детектована су два механизма резистентности – мутација Y136F у оквиру *sup51* гена и прекомерна експресија овог гена. Ова мутација се може детектовати употребом *real-time* PCR методологије, коришћењем високо специфичних прајмера. За потврду резистентности и утврђивање постојања укрштене резистентности између DMI фунгицида, могу се користити и *in vivo* биотестови са лисним дисковима. У оквиру трећег поднаслова *Резистентност E. necator* на SDHI фунгициде истакнут је значај мутација у развоју укрштене резистентности између ових фунгицида. За детекцију резистентности изолата *E. necator* на ове фунгициде, могу се користити биотестови са лисним дисковима и тзв. *Rugosequencing* техника, употребом специфичних прајмера. У склопу четвртог и петог поднаслова *Резистентност E. necator* на арил-фенил кетоне и *Резистентност E. necator* на азанафталене приказани су најважнији подаци о развоју резистентности популација овог патогена на наведене фунгициде. С обзиром на то да не постоје молекуларне методе за детекцију резистентности на ове фунгициде, примена биотестова може омогућити утврђивање резистентних изолата.

Циљеви истраживања. Основни циљеви ове докторске дисертације били су оријентисани ка испитивању осетљивости популација *E. necator* у Србији на фунгициде из различитих група применом класичних и молекуларних метода. Циљеви су били усмерени на извођење *in vivo* биотестова, *real-time* PCR идентификацији и карактеризацији резистентности популација овог патогена и то првенствено на QoI и DMI фунгициде, како би се утврдила распрострањености резистентности на нивоу Србије. С обзиром на то да су истраживањима биле обухваћене групе фунгицида које се данас интензивно користе у стандардним програмима заштите винове лозе од *E. necator* у нашој земљи, један од циљева био је да се утврди да ли је дошло до промена осетљивости популација овог паразита на неке од активних супстанци које припадају релативно новијим групама фунгицида (арил-фенил кетонима и азанафталенима). Испитивања ефикасности фунгицида различитих механизма деловања, имала су за циљ да дају одговоре на то који фунгициди могу, а који не би требало да буду позиционирани у будућим програмима заштите винове лозе. Такође, извођење огледа компаративне ефикасности требало је да пружи прелиминаран увид да ли је дошло до практичног развоја резистентности и да ли постоји ризик од развоја унакрсне резистентности у оквиру појединих група, узимајући у обзир да су у огледе у пољу била укључена најмање два фунгицида са истим механизмом деловања. Испитивања различитих модела заштите винове лозе од *E. necator* имала су за циљ да оптимизују и унапреде програме заштите, пре свега са становишта ефикаснијег сузбијања проузроковача пепелнице. Један од циљева обухватао је и економски аспект у смислу редуковања броја третирања и употребе економичнијих фунгицида са циљем што ефикаснијег сузбијања проузроковача пепелнице.

Материјал и методе. У оквиру овог поглавља наведени су материјали коришћени за рад, као и методе рада. Ово поглавље садржи четири потпоглавља. Прво потпоглавље **Огледи у пољу**, обухвата два поднаслова, *Испитивање компаративне ефикасности фунгицида у сузбијању E. necator* и *Испитивање ефикасности различитих модела (програма) заштите винове лозе од проузроковача пепелнице (E. necator)*. У склопу првог поднаслова наведени су подаци о методи по којој су постављени огледи, локалитетима на

којима су извођени огледи, начину апликације, начину оцењивања, броју третирања, као и фунгицидима који су испитивани. Огледи су постављени у складу са ЕРРО/ОЕРР методом РР 1/4(4) у једном експерименталном и три комерцијална винограда, у периоду од 2019. до 2023. године. У студијама компаративне ефикасности, коришћене су комерцијално доступне формулације фунгицида из различитих група: QoI фунгициди (крезоксим-метил, трифлуксистеробин и пиракlostробин), DMI фунгициди (дифеноконазол, тебуконазол, миклобутанил, пенконазол, мефентрифлуконазол), SDHI фунгициди (боскалид, флуксапироксад и флуопирам), амини/спирокетал-амини (спироксамин), азанафталени (квиноксифен и проквиназид), арил-фенил кетони (метрафенон и пириофенон), фенил-ацетамиди (цифлуфенамид), динитрофенил кротонати (мептил-динокап). Осим набројаних фунгицида, коришћен је и сумпор у облику две формулације (WG и SC), а поједине испитиване варијанте укључивале су и готове формулације на бази комбинација две активне супстанце. Апликација фунгицида изведена је употребом леђне прскалице типа *Solo 425*, а годишње је укупно изведено 6-8 третирања, почевши од фенофазе 4-6 развијених листова (BVCH 14-16) до фенофазе затварања гроздова-почетак зрења (BVCH 79-81). Током сваке експерименталне сезоне, спроведено је укупно по две оцене на по 50 гроздова и једна оцена на 100 листова. Оцена је изведена тако што је процењена процентуална захваћеност гроздова и листова симптомима обољења, коришћењем скале, у односу на степен захваћености површине оцењених органа. Интензитет обољења израчунат је према Townsend-Neuberger-овој формули, а ефикасност фунгицида израчуната је према формули Abbott-a. У склопу другог поднаслова изнети су подаци о испитивањима различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице у периоду од 2020. до 2022. на локалитетима Топола, Сланкаменачки Виногради и Нештин. Укупно је тестирано шест модела заштите и ефекти су упоређивани са стандардним програмом заштите винове лозе. У циљу утврђивања трошкова у оквиру испитиваних модела, анализирани су цене фунгицида, цена рада (дневница радника) и механизације (гориво) за сваку експерименталну годину. Статистичка анализа добијених података спроведена је коришћењем софтвера ARM 2022.7 (GDM Solutions, Inc.), где су подаци обрађени методом једнофакторијалне анализе варијансе (ANOVA), а значајност разлика тестирана је Duncan-овим New multiple range тестом (MRT) на нивоу значајности 5% ($P=0.05$). У другом потпоглављу ***Прикупљање узорака и одржавање патогена*** наведени су подаци о локалитетима из којих су прикупљани заражени листови. Узорци су прикупљени из 22 различита винограда, у периоду од 2019. до 2022. године. Затим су описане методе за одржавање патогена у циљу извођења биотестова и молекуларних анализа. Треће потпоглавље ***Утврђивање осетљивости популација E. necator на различите фунгициде у in vivo тестовима са лисним дисковима (Биотестови са лисним дисковима)*** садржи податке о фунгицидима коришћеним у биотестовима, као и о статистичкој методи (пробит анализи) за утврђивање EC₅₀ вредности код тзв. „wild-type“ популација. У оквиру овог потпоглавља дат је приказ методе за извођење биотестова са лисним дисковима, као и подаци о тестираним изолатима. У четвртном потпоглављу ***Молекуларна детекција и карактеризација резистентности*** које садржи три поднаслова *Екстракција DNK*, *Детекција G143A мутације употребом real-time PCR технике* и *Детекција Y136F мутације употребом qPCR технике* приказане су методе за екстракцију DNK и молекуларне технике за детекцију циљаних мутација, као и подаци о коришћеним прајмерима и условима PCR реакције. У оквиру првог поднаслова дат је приказ методе за екстракцију DNK из зараженог биљног материјала (листова са симптомима пепелнице), која је изведена помоћу

екстракционог DNeasy Mercion Food Kit-a. У оквиру другог и трећег поднаслова приказана је метода за детекцију G143A и Y136F мутација. Дати су подаци о специфичним прајмерима и PCR реакцији. За детекцију алела за резистентност коришћена је ARMS-SYBR Green qPCR техника, а реакције амплификације су се реализовале употребом МІС qPCR машине.

Резултати. Резултати истраживања обрађени су у оквиру пет потпоглавља са више поднаслова. Приказани су јасно и прегледно, уз јасна и концизна текстуална тумачења, прегледне табеле, графиконе и фотографије које на одговарајући начин илуструју добијене резултате истраживања. У првом потпоглављу **Огледи у пољу** резултати су приказани у оквиру два поднаслова. Први поднаслов *Испитивања компаративне ефикасности фунгицида у сузбијању E. necator* садржи детаљан приказ резултата вишегодишњих огледа ефикасности фунгицида на четири локалитета (Радмиловац, Топола, Сланкаменачки Виногради и Нештин). На локалитету Радмиловац, огледи су изведени од 2019. до 2021. године. Интензитет обољења на гроздовима у контролним варијантама кретао се од 18,9 до 69,0%, док се на листовима кретао од 16,0 до 28,7%. Највиша ефикасност постигнута је применом флуксапироксада и комбинације спироксамина + флуопирам, док су се високом ефикасношћу одликовали и проквиназид, спироксамина, цифлуфенамид и дифенконазол. Нешто слабију ефикасност испољили су сумпор и боскалид, док је применом миклобутанила, метрафенона, пириофенона, квиноксифена, крезоксим-метила и трифлуксистеробина, утврђена ниска ефикасност. На локалитету Топола, огледи су изведени од 2019. до 2023. године. Интензитет обољења на гроздовима у контролним варијантама кретао се од 20,3 до 87,9%, а на листовима од 20,2 до 45,4%. Највишу ефикасност, како на гроздовима, тако и на листовима испољио је флуксапироксад. Висока ефикасност забележена је применом комбинације флуопирам + спироксамина, као и цифлуфенамид + дифенконазол. Високом ефикасношћу одликовали су се и флуопирам, спироксамина, цифлуфенамид, проквиназид и мефентрифлуконазол. Дифенконазол, у препорученој концентрацији, испољио је високу ефикасност само током прве године истраживања, док је у осталим годинама забележена ниска ефикасност. У вишим концентрацијама његова ефикасност је била ниска до задовољавајућа. Слична ситуација забележена је и код тебуконазола. Ниска ефикасност утврђена је применом миклобутанила, пенконазола, метрафенона, пириофенона, крезоксим-метила, трифлуксистеробина, пираклостробина и квиноксифена. Сумпор је испољио знатно вишу ефикасност на листовима, него на гроздовима. На локалитету Сланкаменачки Виногради, огледи су изведени у периоду од 2019. до 2023. (2022. године огледи нису рађени), а интензитет обољења у контролним варијантама кретао се од 20,9 до 83,3% на гроздовима, односно, од 20,3 до 51,0% на листовима. Максимална ефикасност током читавог истраживања, на овом локалитету, забележена је применом флуксапироксада. Висока ефикасност утврђена је применом боксалида, метрафенона, пириофенона, цифлуфенамида, флуопирама и мефентрифлуконазола. Комбинације спироксамина + флуопирам и цифлуфенамид + дифенконазол, такође су испољиле високу ефикасност. Нешто слабију ефикасност, у препорученим концентрацијама примене, испољили су дифенконазол и тебуконазол, док је при вишим концентрацијама остварена боља ефикасност. Ниска ефикасност утврђена је код крезоксим-метила, трифлуксистеробина, миклобутанила и квиноксифена, док је сумпор као и на претходним локалитетима испољио бољу ефикасност у сузбијању *E. necator* на листовима, него на гроздовима. На локалитету Нештин, огледи су изведени од 2020. до 2023. године. Интензитет обољења на гроздовима у контролним варијантама кретао се од 24,4 до 69,0%, а на листовима од 24,9 до 60,1%. Највишу ефикасност како на гроздовима,

тако и на листовима испољио је флуксапироксад. Висока ефикасност забележена је применом комбинација флуопирам + спироксамин и цифлуфенамид + дифеноконазол. Високом ефикасношћу одликовали су се и флуопирам, спироксамин, цифлуфенамид, проквиназид, пириофенон, боскалид и мефентрифлуконазол. Дифеноконазол је испољио ниску ефикасност, како у препорученој, тако и у вишим концентрацијама примене. Ниска ефикасност утврђена је применом миклобутанила, пенконазола, крезоксим-метила и квиноксифена. У оквиру другог поднаслова *Ефекти различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице (E. necator)* приказани су резултати огледа који су спроведени од 2020. до 2022. године на три локалитета (Топола, Сланкаменачки Виногради и Нештин), у оквиру којих су испитивани различити модели заштите винове лозе од *E. necator*. На локалитету Топола, најбоља ефикасност забележена је код модела 3, 4 и 5, како на гроздовима, тако и на листовима, и у поређењу са стандардним програмом заштите није утврђена статистички значајна разлика. Слабија ефикасност утврђена је код модела 1, 2 и 6. На локалитету Сланкаменачки Виногради, код свих испитиваних модела утврђена је висока ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима. На листовима, најбоља ефикасност остварена је применом модела 5. Висока ефикасност забележена је и код модела 3,4 и 6, а нешто слабија код модела 1 и 2. На локалитету Нештин, највиша ефикасност забележена је у моделима 4 и 5, док је код осталих модела утврђена нешто слабија ефикасност. У оквиру овог поднаслова дат је и приказ анализе трошкова испитиваних модела заштите. Најекономичнији био је модел 3, и он је у просеку био јефтинији за 98 евра/ха у односу на стандардни програм заштите, док су модели 4 и 5 били јефтинији за 70, односно 50 евра/ха у односу на стандардни програм заштите. У другом потпоглављу ***Осетљивост популација E. necator на QoI фунгициде у биотестовима са лисним дисковима и qPCR детекција G143A мутације*** дат је приказ резултата биотестова и молекуларних анализа у контексту проучавања резистентности на QoI фунгициде. Ово потпоглавље садржи и два поднаслова. У оквиру првог поднаслова *Детекција G143A алела за резистентност* приказани су резултати детекције G143A мутације код 110 изолата *E. necator* коришћењем real-time PCR технике. Код резистентних изолата %G143A алела за резистентност био је >95% у митохондријалној DNK, и таквих изолата је било око 62% од укупно анализираних. Осетљивих (тзв. „wild-type) изолата са <5% %G143A алела за резистентност у митохондријалној DNK, било је око 9%, док је мешаних изолата, код којих је %G143A мутација била између 5 и 95%, било око 29%. Наводи се да је највећи број резистентних изолата, потицао из комерцијалних винограда. Други поднаслов *Осетљивост популација E. necator на QoI фунгициде* садржи резултате који се односе на осетљивост изолата *E. necator* на трифлуксистеробин и крезоксим-метил. Од укупног броја тестираних изолата, 77% сврстано је у групу резистентних, док је 23% означено као осетљиво. Сви изолати код којих је претходно утврђено >95% G143A алела за резистентност у митохондријалној DNK, били су резистентни у биотестовима. У трећем потпоглављу ***Осетљивост популација E. necator на азанафталене*** приказани су резултати осетљивости изолата проузроковача пепелнице на квиноксифен и проквиназид у биотестовима. У биотестовима, изолати који су водили порекло из винограда где су изведени огледи у пољу као и једног комерцијалног винограда са дужом историјом примене квиноксифена, означени су као резистентни. Знатно јачу инхибицију у тестовима осетљивости испољио је проквиназид, са процентима инхибиције пораста изолата који су били већи при све три тестиране концентрације у односу на квиноксифен. Изолати који су водили порекло из нетретираних винограда, у потпуности су инхибирани при препорученим концентрацијама

оба фунгицида. Четврто потпоглавље **Осетљивост популација *E. necator* на арил-фенил кетоне** садржи резултате који се односе на осетљивост изолата *E. necator* на метрафенон и пириофенон. Нормално осетљиви изолати, који су водили порекло из нетретираних винограда, били су у потпуности инхибирани при препорученим концентрацијама оба фунгицида. Изолати који су водили порекло са локалитета где је утврђена ниска ефикасност у практичним условима, означени су као резистентни, с обзиром на то да је забележена ниска инхибиција при све три тестиране концентрације метрафенона и пириофенона. Изолати који су водили порекло из два винограда са дужом историјом примене ова два фунгицида, били су нешто осетљивији при већим концентрацијама, али је при препорученим концентрацијама забележена ниска инхибиција. У петом потпоглављу **Осетљивост популација *E. necator* на DMI фунгициде у биотестовима са лисним дисковима и qPCR детекција резистентности** резултати су приказани у оквиру два подналова. Први поднаслов **Осетљивост популација *E. necator* на DMI фунгициде** садржи резултате који се односе на утврђивање осетљивости изолата *E. necator* на миклобутанил, дифеноконазол и тебуконазол. Код већине тестираних изолата, утврђени су ниски проценти инхибиције пораста, при препорученим, два и четири пута већим концентрацијама миклобутанила. Знатно већу инхибицију пораста тестираних изолата испољио је дифеноконазол. При препорученој концентрацији овог фунгицида проценат инхибиције, код већине изолата, кретао се између 60 и 80%, док је при вишим концентрацијама забележена знатно већа инхибиција (> 80%). У биотестовима, тебуконазол је испољио нешто јачу инхибицију у поређењу са миклобутанилом, али нешто слабију у односу на дифеноконазол. У оквиру другог подналова **Детекција Y136F мутације код популација *E. necator* резистентних на DMI фунгициде** дат је приказ резултата real-time PCR анализе 106 тестираних изолата. Од укупно анализираних, код 45 изолата је потврђено присуство Y136F мутације. У експерименталном винограду, код 18% изолата утврђена је ова мутација. Готово 52% изолата прикупљених из комерцијалних винограда били су носиоци мутације, а код 30% изолата из екстензивних винограда детектована је ова мутација.

Дискусија. Добијени резултати дискутовани су у оквиру седам потпоглавља. Кандидат је коментарисао резултате до којих је дошао током истраживања и поредио их са резултатима из доступних литературних извора. У првом потпоглављу **Појава обољења у пољским огледима** дискутовани су услови за појаву симптома пепелнице на гроздовима и листовима током извођења огледа у пољу. Појава обољења у контролним варијантама у периоду од 2019. до 2023. године била је различитог интензитета, како на гроздовима, тако и на листовима. Висок интензитет обољења у контролним варијантама, био је последица јаким примарних и секундарних инфекција. Према литературним наводима, погодни услови за остваривање примарних инфекција током пролећа, у периоду између пуцања пупољака до цветања, су температуре изнад 11 °С, минимална количина падавина >2,5 mm, висока релативна влажност и продужено влажење листа, док су за остваривање секундарних инфекција неопходне више температуре (између 20 и 27 °С), честе, али кратокрајне падавине, уз релативну влажност између 80 и 85%. Кандидат наводи да су такви услови остварени током 2019. године на локалитетима Радмиловац и Топола, 2020. године на локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради, 2021. године на локалитетима Нештин и Сланкаменачки Виногради и 2022. године на локалитету Нештин, што је резултирало значајном појавом симптома обољења у контролним варијантама. У оквиру другог потпоглавља **Резистентност популација *E. necator* на QoI фунгициде** дискутовани су резултати везани за појаву резистентних изолата *E. necator* на фунгициде из

групе стробилурина у Србији, и поређени су са резултатима других аутора. Ниска ефикасност трифлуксиробина, крезоксим-метила и пираклостробина у практичним условима, указивала је на промену осетљивости популација *E. necator* на испитиваним локалитетима. Резистентност изолата потврђена је real-time PCR детекцијом G143A мутације и сви изолати код којих је % G143A алела за резистентност у митохондријалној ДНК > 95%, означени су као резистентни, што је у сагласности са резултатима других аутора. Исти изолати, у биотестовима са лисним дисковима, развијали су се при препорученим, два и четири пута већим концентрацијама трифлуксиробина и крезоксим-метила чиме је потврђена укрштена резистентност између ова два фунгицида. Узимајући у обзир да је раширеност G143A мутације доминантна код популација пореклом из комерцијалних винограда, закључено је да примена QoI фунгицида у контексту сузбијања *E. necator* нема перспективу, и да би ове фунгициде требало искључити из програма заштите винове лозе. У трећем потпоглављу **Резистентност популација *E. necator* на азанафталене** дискутовани су резултати осетљивости изолата *E. necator* на квиноксифен и проквиназид у биотестовима, као и ефикасност ових фунгицида у пољским огледима. Ниска ефикасност квиноксифена на сва четири локалитета у пољским огледима, упућивала је на промену осетљивости популација *E. necator* на овај фунгицид. У поређењу са литературним подацима, у овој дисертацији је по први пут утврђена ниска ефикасност квиноксифена у огледима у пољу. С друге стране, наводи се да је проквиназид испољио високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима, док је на листовима у појединим годинама ефикасност била ниска, што је у сагласности са резултатима других истраживања. Резултати тестова са лисним дисковима, указали су на чињеницу да проквиназид испољава знатно јачу инхибицију пораста изолата *E. necator* у односу на квиноксифен, чиме је потврђено да нема укрштене резистентности између ова два фунгицида. С практичног аспекта, ово значи да проквиназид може успешно сузбити популације резистентне на квиноксифен, што је потврђено радовима других аутора. У четвртном потпоглављу **Резистентност популација *E. necator* на арил-фенил кетоне** дискутована је ефикасност метрафенона и пириофенона у пољским огледима, као и осетљивост изолата *E. necator* на ова два фунгицида у биотестовима. Ниска ефикасност метрафенона и пириофенона утврђена је на локалитетима Радмиловац и Топола, док је висока ефикасност ових фунгицида забележена на локалитетима Сланкаменачки Виногради и Нештин. Изолати који су водили порекло са локалитета где је утврђена ниска ефикасност метрафенона и пириофенона, били су резистентни на ова два фунгицида у тестовима са лисним дисковима и развијали су се при четири пута већој концентрацији од препоручене, што је било у сагласности са резултатима других аутора. На овај начин, потврђена је хипотеза да долази до развоја укрштене резистентности између фунгицида који припадају групи арил-фенил кетона. Посматрано са практичног аспекта, кандидат наводи да уколико се утврди ниска ефикасност арил-фенил кетона у пољским огледима и потврди резистентност у биотестовима, њихову примену у програмима заштите винове лозе требало би избегавати. У оквиру петог потпоглавља **Резистентност популација *E. necator* на DMI фунгициде** дискутовани су резултати ефикасности ових фунгицида у пољским огледима и осетљивости изолата у биотестовима на ове фунгициде, као и резултати молекуларних анализа. На сва четири локалитета, утврђена је ниска ефикасност миклобутанила, док се ефикасност дифеноконазола и тебуконазола разликовала у зависности од локалитета. Ниска ефикасност миклобутанила и висока ефикасност дифеноконазола на истом локалитету, била је у сагласности са резултатима претходних истраживања, што указује да

највероватније нема укрштене резистентности између ова два фунгицида. Наводи се да су резултати истраживања показали да уколико је изолат резистентан на миклобутанил, највероватније ће доћи до развоја укрштене резистентности са тебуконазолом, али не и са дифеноконазолом. Међутим, код високо резистентних изолата на миклобутанил, долази до развоја укрштене резистентности са дифеноконазолом. Кандидат наводи да детекција Y136F мутације код изолата *E. necator*, не значи нужно да ће доћи до развоја укрштене резистентности између свих DMI фунгицида, већ је за развој оваквог типа резистентности потребно да у популацији коегзистира два или више механизма. Поједини аутори, у својим истраживањима, управо наводе да уколико је заступљен само један механизам, односно Y136F мутација, долази до развоја резистентности на миклобутанил и тебуконазол, док два или више механизма условљава развој укрштене резистентности између свих DMI фунгицида. Шесто потпоглавље **Ефекти осталих група фунгицида у сузбијању *E. necator* у пољским огледима** састоји се од четири подналова. Висока ефикасност флукаспироксада и флуопирама дискутована је у оквиру првог подналова *Ефикасност SDHI фунгицида*. Ова два фунгицида су испољила највећу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице током извођења огледа у пољу. С друге, стране боскалид је испољио високу ефикасност на локалитетима Сланкаменачки Виногради и Нештин, док је на локалитетима Топола и Радмиловац забележена ниска ефикасност овог фунгицида. Поредице резултате других истраживања, где је утврђена ниска ефикасност боскалида, могло би се претпоставити да је дошло до промене осетљивости популација *E. necator* на боскалид, и да је за то највероватније одговорна H242R мутација, која условљава развој резистентности на боскалид и изопаиразам, али не и на друге SDHI фунгициде. У оквиру другог подналова *Ефикасност спироксамина и комбинације спироксамина са флуопирамом* дискутована је висока ефикасност ових фунгицида у сузбијању проузроковача пепелнице, те је закључено да су добијени резултати у сагласности са резултатима других истраживања, и да се спироксамин и његова комбинација са флуопирамом могу успешно примењивати у програмима заштите винове лозе. Висока ефикасност цифлуфенамида и његове комбинације са дифеноконазолом дискутована је у оквиру трећег подналова *Ефикасност цифлуфенамида и комбинације цифлуфенамида са дифеноконазолом*. Цифлуфенамид је испољио високу ефикасност у сузбијању *E. necator* што је било у сагласности са резултатима претходних истраживања. У комбинацији са дифеноконазолом, висока ефикасност остварена је на свим локалитетима. У оквиру четвртог подналова *Ефикасност сумпора и мептил-динокапа* дискутовани су разлози за високу, односно ниску ефикасност сумпора на гроздовима и листовима у појединим годинама истраживања. Сумпор је, углавном, испољио бољу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на листовима него на гроздовима, што је у сагласности са резултатима других аутора. Ниска ефикасност сумпора на гроздовима, у појединим годинама чак и негативна, објашњава се чињеницом да су током таквих година, ниске просечне температуре и продужено влажење, утицали на драстично смањење ефикасности. Мептил-динокап је испитиван 2020. године и тада је испољио ниску ефикасност у сузбијању *E. necator*, а вероватни разлози за ниску ефикасност, како наводи кандидат, леже у неповољним метеоролошким условима и начину деловања овог фунгицида, с обзиром на то да се ради о изразитом несистемичку. На крају, у оквиру седмог потпоглавља **Анализа различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице** дискутовани су резултати ефикасности испитиваних модела заштите винове лозе од *E. necator*. У поређењу са стандардним програмом заштите, утврђено је да су модели 3, 4 и 5 били најефикаснији, и да углавном није утврђена статистички значајна разлика

између њих. Кандидат наводи да су резултати показали да уколико се изоставе третирања након фенофазе бобице величине зрна грашка, неће доћи до значајније појаве обољења на гроздовима. Међутим, указује се на чињеницу да је неопходно наставити са заштитом листова, те се успешна заштита може постићи применом сумпора, који осим економичности, испољава и високу ефикасност у сузбијању *E. necator* на листовима. Добијени резултати били су сагласни са резултатима претходних истраживања, где се углавном наводи, да се успешна заштита гроздова може постићи благовременом применом високо ефикасних фунгицида у критичним фенофазама – од диференцијације цвасти до бобице величине зрна грашка. Поред високе ефикасности испитиваних модела, потврђена је њихова економичност, тј. у односу на стандардни програм заштите, применом модела 3, 4 и 5 може се остварити значајна уштеда (50-100 евра) на годишњем нивоу по хектару.

Закључак. Закључци су правилно изведени и произилазе из добијених резултата. Услови за развој патогена током испитивања ефикасности фунгицида у пољу, били су погодни, што је резултирало значајном појавом симптома обољења у контролним варијантама, како на гроздовима, тако и на листовима. Највећа ефикасност у сузбијању *E. necator* забележена је применом флуксапироксада и флуопирама, како самостално, тако и у комбинацији са спироксамином. Боскалид је испољио високу ефикасност на локалитетима Сланкаменачки Виногради и Нештин, док је ниска ефикасност забележена на локалитетима Топола и Радмиловац, те добијени резултати сугеришу да је највероватније дошло до промене осетљивости популација *E. necator* на боскалид, односно да је дошло до развоја резистентности која је вероватно индукована мутацијом H242R. На свим испитиваним локалитетима утврђена је ниска ефикасност QoI фунгицида (крзоксим-метила, трифлуксистробина и пираклостробина), што је указивало на развој укрштене резистентности. Резистентност популација *E. necator* на QoI фунгициде потврђена је на молекуларном нивоу детекцијом G143A мутације у *cyt b* гену, па је тако код свих изолата пореклом из експерименталног винограда и код више од 80% изолата пореклом из комерцијалних винограда, утврђено присуство ове мутације са фреквенцијом >95% G143A алела за резистентност. Од укупно 110 тестираних, више од 60% изолата окарактерисани су као мутанти, док је мање од 10% припадало тзв. „wild-type“ категорији, а преостали изолати сврстани су у групу мешаних. Укрштена резистентност између крзоксим-метила и трифлуксистробина потврђена је биотестовима са лисним дисковима. Добијени резултати недвосмислено указују на широку дистрибуцију резистентних популација *E. necator* на QoI фунгициде у Србији и појаву укрштене резистентности између ових фунгицида. Посматрано са практичног аспекта, даља примена ових фунгицида у већини виноградарских рејона у нашој земљи, нема перспективу и ове фунгициде би требало искључити из програма заштите винове лозе од проузроковача пепелнице. Ниска ефикасност квиноксифена у сузбијању *E. necator* утврђена је готово на свим испитиваним локалитетима, док је ефикасност проквиназида била висока, нарочито у сузбијању овог патогена на гроздовима, а нешто слабија забележена је на листовима. Ниска ефикасност квиноксифена у пољу била је у корелацији са детекцијом резистентних изолата у биотестовима. Изолати пореклом из експерименталног и три комерцијална винограда у којима су вршена испитивања ефикасности, развијали су се при свакој од три тестиране концентрације квиноксифена, док је проквиназид испољио знатно већу већу инхибицију пораста истих изолата. Висока ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице, као и значајно већа инхибиција коју је испољио проквиназид у односу на квиноксифен у биотестовима са лисним дисковима, упућују на закључак да између ова два фунгицида није

утврђена укрштена резистентност. Посматрано с практичног аспекта, проквиназид се може корисити као поуздана алтернатива квиноксифену на локалитетима где је утврђена резистентност на овај фунгицид. Ниска ефикасност фунгицида из групе арил-фенил кетона у сузбијању проузроковача пепелнице утврђена је на локалитетима Радмиловац и Топола, док је на локалитетима Нештин и Сланкаменачки Виногради забележена њихова висока ефикасност. У биотестовима са лисним дисковима, забележена је ниска инхибиција пораста изолата *E. necator* при препорученој, два и четири пута већој концентрацији метрафенона и пириофенона, чиме је потврђена укрштена резистентност између ова два фунгицида. Добијени резултати указују на чињеницу да, на локалитетима где је забележена смањена ефикасност фунгицида из групе арил-фенил кетона, ове фунгициде не би требало корисити у програмима заштите винове лозе. Ниска ефикасност миклобутанила у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе утврђена је на свим испитиваним локалитетима, како при препорученој тако и при двоструко већој концентрацији. На два локалитета постигнута је висока, а на два ниска ефикасност дифеноконазола у препорученој концентрацији, док је при двоструко већој концентрацији забележена виша ефикасност овог фунгицида. Тебуконазол примењен у препорученој концентрацији испољио је релативно ниску ефикасност, док је при 50% већој концентрацији постигнута боља ефикасност, а највећа ефикасност овог фунгицида забележена је применом двоструко веће концентрације. На локалитетима где је установљена ниска ефикасност триазола у препорученим концентрацијама примене, утврђена је и укрштена резистентност између миклобутанила, дифеноконазола и тебуконазола. Супротно томе, на локалитетима где је ефикасност дифеноконазола била висока, укрштена резистентност у биотестовима утврђена је само између миклобутанила и тебуконазола, али је тебуконазол знатно јаче инхибирао пораст резистентних изолата *E. necator* од миклобутанила. Молекуларна детекција мутације Y136F утврђена је код изолата *E. necator* широм Србије, али детекција ове мутације не илуструје на прави начин заступљеност и стабилност резистентности у оквиру популација. Примећено је да што је више изолата у оквиру популације који носе ову мутацију, утолико је и резистентност израженија, односно приметно је смањење ефикасности свих фунгицида из групе триазола. С друге стране, код изолата који су резистентни на миклобутанил и тебуконазол, али не и на дифеноконазол, мутација није детектована у високом проценту, већ спорадично, те би се могло закључити да већи број механизма интерферира у самом развоју резистентности популација *E. necator* на ДМ1 фунгициде и да механизам резистентности, заправо, одређује развој укрштене резистентности. Ефикасност спироксамина и комбинације спироксамина+флуопирам у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе била је висока у свим годинама испитивања. Цифлуфенамид примењен самостално и у комбинацији са дифеноконазолом испољио је високу ефикасност у сузбијању *E. necator*. Ефикасност сумпора варирала је од ниске до високе, у зависности од сезоне у којој су извођени огледи. Генерално, висока ефикасност сумпора у сузбијању проузроковача пепелнице на листовима забележена је готово у свим годинама испитивања. У оптималним условима за његово деловање, сумпор је испољио високу ефикасност у сузбијању овог патогена на гроздовима, док је у годинама са мање повољним условима за деловање, ефикасност била чак и негативна. Испитивањем различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, дошло се до закључака да, у поређењу са стандардним програмом заштите, слични ефекти се могу остварити применом модела 3, 4 и 5. Такође, применом ових модела смањују се трошкови заштите винове лозе, односно обезбеђује се економичнија производња. Применом класичних и молекуларних метода

недвосмислено су утврђене резистентне популације *E. necator* на QoI и DMI фунгициде широм Србије. Применом класичних метода утврђене су и резистентне популације на фунгициде из групе арил-фенил кетона, а такође су утврђене и резистентне популације на квиноксифен. Резултати ове докторске дисертације указују на потребу перманентног испитивања осетљивости изолата из различитих локалитета и виногорја са циљем утврђивања њихове осетљивости на активне супстанце из различитих група, како би се на основу добијених резултата креирала тзв. „tailored plant protection“ или заштита биља „сашивена по мери“, односно програми заштите који ће бити прилагођени конкретним условима на терену.

Литература. У дисертацији је наведено 265 извора литературе. Референце су цитиране на правилан начин, а извор референци је актуелан и одговара тематици која је проучавана.

Прилози. У оквиру пет прилога приказани су допунски материјали који су од значаја за боље разумевање овог рада: метеоролошки подаци за локалитете Радмиловац, Сланкаменачки Виногради, Нештин и Топола приказани у виду графикона (Прилог 1), табела са подацима за профил резистентности/осетљивости изолата *E. necator* на QoI и DMI фунгициде (Прилог 2), табела са подацима о историји примене фунгицида у програмима заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, на локалитетима са којих су прикупљени узорци са извођење биотестова и молекуларних анализа (Прилог 3), графички приказ заражених гроздова у процентима (учесталост појаве симптома пепелнице) на испитиваним локалитетима у огледима ефикасности (Прилог 4), графички приказ заражених гроздова у процентима (учесталост појаве симптома пепелнице) у различитим моделима заштите винове лозе од *E. necator* (Прилог 5).

5. Остварени резултати и научни допринос дисертације

С обзиром на то да истраживања у оквиру ове дисертације тематски нису раније обављена у нашој земљи, добијени резултати имају велики значај, како у научном, тако и у практичном смислу. Резултати у оквиру ове дисертације указују да је у нашој земљи дошло до промене осетљивости популација *E. necator* на фунгициде из неколико најважнијих група које се користе у програмима заштите винове лозе. Применом класичних и молекуларних метода истраживања, утврђена је појава резистентности популација *E. necator* на QoI и DMI фунгициде у најзначајнијим виноградарским рејонима Србије. Примена real-time PCR технике омогућила је детекцију G143A и Y136F мутација, специфичних за резистентне популације *E. necator* на QoI и DMI фунгициде. Извођење огледа ефикасности и биотестова омогућило је детекцију резистентних популација проузроковача пепелнице на квиноксифен, као и на пириофенон и метрафенон, фунгициде из групе арил-фенил кетона. Поред тога, утврђена је појава укрштене резистентности између QoI фунгицида, DMI фунгицида и арил-фенил кетона, док између квиноксифена и проквиназида није детектована ова појава.

Поред научног, резултати ове докторске дисертације имају и огроман практични значај, нарочито у контексту унапређења заштите винове лозе од проузроковача пепелнице. Имајући у виду да су у истраживања у пољским огледима били укључени фунгициди из најважнијих група које се користе у заштити винове лозе од *E. necator*, подаци о њиховој ефикасности пружају увид у то који фунгициди могу, а који не би требало да се користе у програмима заштите винове лозе. Додатно, подаци о ефикасности омогућавају адекватније позиционирање фунгицида у критичним фазама за инфекцију. Такође, подаци о развоју

укрштене резистентности у оквиру одређених група могу бити од изузетног практичног значаја, у смислу одабира одговарајућих фунгицида за ефикасније сузбијање проузроковача пепелнице. Увидом у статус осетљивости одређене популација *E. necator* на различите фунгициде, ствара се погодан темељ за креирање мера антирезистентне стратегије и одрживих програма заштите. Имплементацијом адекватних модела у програме заштите винове лозе од *E. necator*, може се редуковати број третирања и постићи значајно економичнија и еколошки прихватљивија производња.

6. Објављени и саопштени резултати

Uroš D. Vojinović, Jelena Adamović, Milan M. Ivanović, Milan Ž. Stević (2023): Occurrence of resistance in field populations of *Erysiphe necator* to QoI, azanaphthalene and aryl-phenylketone fungicides in Serbia. *Crop Protection*, 173, 106359. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106359>

Uroš Vojinović, Milan Ivanović, Jelena Adamović, Milan Stević (2023): Rezistentnost populacija *Erysiphe necator* na azanaftalene, aril-fenil ketone i QoI fungicide u Srbiji (uvodno predavanje). XVII Simpozijum o zaštiti bilja, Zlatibor, 27-30. Novembar, 2023. Zbornik rezimea, str. 28-29.

7. Закључак и предлог комисије

Докторска дисертација Уроша Д. Војиновића, мастер инжењера пољопривреде, под насловом: „Осетљивост популација *Erysiphe necator* на фунгициде различитих механизма деловања у Србији“, представља оригинални и самостални научно-истраживачки рад, а спроведена истраживања су у потпуности реализована у складу са планом и програмом који је предвиђен приликом пријаве теме докторске дисертације. Кандидат је проучио доступне литературе изворе, који су коришћени приликом дефинисања циљева, предмета и програма истраживања. Методе које су примењене у експерименталном делу истраживања су адекватне, поуздане и савремене. Добијени резултати потврдили су постављене хипотезе и у складу су са циљем истраживања. Резултати су прегледно приказани и правилно анализирани, а дискусија је, уз осврт на доступне литературне изворе, правилно вођена. На основу добијених резултата закључци су правилно изведени. Докторска дисертација је технички добро организована и уређена, а написана је прегледно и јасним језиком.

Узимајући у обзир чињеницу да истраживања у оквиру ове дисертације тематски нису раније обављена у нашој земљи, комисија сматра да добијени резултати имају велики значај, јер обједињују научни и практични аспект. Резултати у оквиру ове дисертације указују да је у Србији дошло до промене осетљивости популација *E. necator* на фунгициде из неколико најважнијих група које се користе у програмима заштите винове лозе. Извођењем тестова осетљивости и real-time PCR детекцијом G143A и Y136F мутација, које су специфичне за резистентне популације *E. necator* на QoI и DMI фунгициде, утврђени су резистентни изолати *E. necator* и потврђена је појава укрштене резистентности. Утврђена је појава укрштене резистентности између фунгицида из групе арил-фенил кетона, док ова појава није детектована између квиноксифена и проквиназида. Са практичног становишта, значај добијених резултата огледа се у унапређењу програма заштите винове лозе од *E. necator*, тј. добијени резултати пружају увид у то који фунгициди могу, а које не би требало користити у програмима заштите винове лозе. У том контексту, на основу резултата

истраживања, исти програм заштите не може бити универзално примењен на сваком локалитету, већ у односу на осетљивост изолата *E. necator* према активним супстанцама из различитих група, требало би креирати програм заштите прилагођен конкретним условима на терену. Треба истаћи и да, имплементацијом неколико најефикаснијих модела заштите у производни систем винове лозе, може се обезбедити знатно економичнија и еколошки прихватљивија производња.

Имајући у виду све изнето, а нарочито остварене резултате и њихов научни и практични допринос, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију Уроша Д. Војиновића, мастер инжењера пољопривреде, под насловом: „**Осетљивост популација *Erysiphe necator* на фунгициде различитих механизма деловања у Србији**“ и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета, Универзитета у Београду, да позитивну оцену прихвати и на тај начин омогући кандидату јавну одбрану ове докторске дисертације.

Београд-Земун,
Дана 29.03.2024. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

др Милан Ивановић, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
(ужа научна област: Фитопатологија)

др Емил Рекановић, научни саветник
Институт за пестициде и заштиту животне средине, Београд
(ужа научна дисциплина: Фитофармација и токсикологија)

др Славица Вуковић, редовни професор
Универзитет у Новом Саду – Пољопривредни факултет
(ужа научна област: Фитофармација)

др Горан Алексић, научни саветник
Институт за заштиту биља и животну средину, Београд
(ужа научна дисциплина: Фитопатологија)

др Недељко Латиновић, редовни професор
Универзитет Црне Горе – Биотехнички факултет, Подгорица
(ужа научна област: Заштита биља)

Прилог:

Рад кандидата Уроша Д. Војиновића, мастер инжењера пољопривреде, објављен у научном часопису са SCI листе, који квалификује кандидата за одбрану дисертације:

1. **Vojinović U. D.**, Adamović J., Ivanović M. M., Stević M. Ž. (2023): Occurrence of resistance in field populations of *Erysiphe necator* to QoI, azanaphthalene and aryl-phenyl-ketone fungicides in Serbia. *Crop Protection*, 173, 106359. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106359>

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Немањина 6, 11080 Београд – Земун

Предмет: Изјава о оригиналности докторске дисертације „Осетљивост популација *Erysiphe necator* на фунгициде различитих механизма деловања у Србији“ аутора Уроша Д. Војиновића

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и Извештаја из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације „Осетљивост популација *Erysiphe necator* на фунгициде различитих механизма деловања у Србији“, аутора Уроша Д. Војиновића, дана 05.03.2024. године, константујемо да утврђена количина подударања текста износи 3%. Овај степен подударности последица је личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, тзв. општих места и података, цитата, као и претходно публикованих резултата истраживања докторанда, који су проистекли из његове дисертације, што је у складу са чланом 9. овог Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8., став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујем да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

У Београду, 29.03.2024. године

Ментор:

др Милан Стевић, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
(ужа научна област: Пестициди)