

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Урош Д. Војиновић

**ОСЕТЉИВОСТ ПОПУЛАЦИЈА *ERYSIPHE*
LESCATOR НА ФУНГИЦИДЕ РАЗЛИЧИТИХ
МЕХАНИЗАМА ДЕЛОВАЊА У СРБИЈИ**

Докторска дисертација

Београд, 2024

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Урош Д. Војиновић

**ОСЕТЉИВОСТ ПОПУЛАЦИЈА *ERYSIPHE*
LESCATOR НА ФУНГИЦИДЕ РАЗЛИЧИТИХ
МЕХАНИЗАМА ДЕЛОВАЊА У СРБИЈИ**

Докторска дисертација

Београд, 2024

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF AGRICULTURE

Uroš D. Vojinović

**SENSITIVITY OF *ERYSIPHE NECATOR*
POPULATIONS IN SERBIA TO
FUNGICIDES WITH DIFFERENT MODES
OF ACTION**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2024

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:

Ментор: др Милан Стевић, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет

Чланови комисије: 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

Датум одбране: _____

Захвалница

Неизмерну и дубоку захвалност дугујем проф. др Милану Стевићу, ментору ове докторске дисертације, на указаном поверењу, труду, пренетом знању које је несебично делио све ове године и слободи коју ми је дао у истраживачкој и наставној делатности. Савети, безрезервна подршка и помоћ, одлучност, конструктивност, проницљивост, сати неисцрпне дискусије, подстицање на критичко мишљење, деловали су мотивишуће и имали су колосалан утицај на мој професионални и лични развој.

На помоћи, сарадњи, анагажовању, издвојеном времену и драгоценим сугестијама, нарочито у домену молекуларних метода, које чине интегралан део ове докторске дисертације, огромну захвалност дугујем проф. др Милану Ивановићу.

Проф. др Алекси Обрадовићу дугујем велику захвалност на предусретљивости и на могућности да део својих истраживања у склопу дисертације обавим у Лабораторији за фитобактериологију. Искрену захвалност дугујем драгој колегиници, асистенту Јелени Адамовић, чија помоћ, марљивост и савети у лабораторијском раду су омогућили реализацију молекуларних истраживања.

На труду, залагању и свесрдној помоћи током извођења огледа у пољу, велику захвалност дугујем колеги Милошу Ранковићу, који је у претходних пет година у сваком тренутку био доступан и спреман за сарадњу и подршку.

Огромну захвалност дугујем госпођи Ради Паунић, из Краљевске винарије (Задужбина Краља Петра I) у Шополи, господину Горану Даничићу, из ОЗЗ „Срем“ у Нештину и господину Драгољубу Миловановићу из Новог Сланкамена, који су препознали значај истраживања и без икакве задрике, омогућили ми да истраживања у пољу и прикупљање узорака винове лозе обавим на поменутиим локалитетима. Захвалност дугујем и колеги Владимиру Зечевићу дипл. инж. са ОДЈФ „Радмиловац“, на обезбеђивању локалитета за извођење огледа ефикасности и техничку подршку.

Поштованим колегама и пријатељима Ивану Стевановићу маг. инж. и Јовану Лазаревићу маг. инж. захваљујем се на помоћи и подршци током извођења огледа у пољу. Искрену захвалност на сарадњи, колегијалности и помоћи, дугујем драгој колегиници асистенту Нађи Милутиновић. Колеги и пријатељу Данијелу Милинчићу, захваљујем се на сарадњи и конструктивним разговорима, који су помогли да дани проведени у раду на факултету буду плодносни. Свим драгим колегама и пријатељима, који су ми пружали подршку и указали неизмерно поверење, захваљујем се од срца.

Бескрајну захвалност дугујем својој породици, родитељима Драговану и Аници, брату Ђорђу и баки Дубравки, за безрезервну подршку и безусловну помоћ коју су ми пружали током читавог живота и што су увек били мој темељ и ослонац.

На крају, за безграничну љубав и подршку, коју ми је пружала током израде ове докторске дисертације, посебну захвалност дугујем мојој вереници Мири. Хвала на стрпљењу, разумевању, саосећајности и брижности, твој осмењ и твоја енергија били су ми ветар у леђа и највећа мотивација.

ОСЕТЉИВОСТ ПОПУЛАЦИЈА *ERYSIPHE NECATOR* НА ФУНГИЦИДЕ РАЗЛИЧИТИХ МЕХАНИЗАМА ДЕЛОВАЊА У СРБИЈИ

Сажетак

Циљ ове докторске дисертације био је да се, применом стандардних и молекуларних метода, утврди да ли је дошло до промена осетљивости популација *Erysiphe necator* на фунгициде који чине окосницу сузбијања овог патогена у Србији. Огледи у пољу, биотестови и молекуларне анализе спроведене су у периоду од 2019. до 2023. године. У циљу извођења биотестова са лисним дисковима, као и молекуларних анализа, узорци заражених листова винове лозе прикупљени су из комерцијалних, екстензивних и нетретираних винограда, као и једног експерименталног засада. За молекуларну детекцију G143A и Y136F мутације код популација *E. necator*, резистентних на QoI и DMI фунгициде, коришћена је ARMS-SYBR Green qPCR техника са специфичним прајмерима.

Ниска ефикасност QoI фунгицида (крезоксим-метила, трифлуксистробина и пираклостробина) у огледима у пољу, утврђена је на сва четири локалитета, док је на појединим локалитетима забележена и негативна ефикасност ових фунгицида у сузбијању *E. necator*. У биотестовима са лисним дисковима, код осам од укупно дванаест тестираних популација, раст изолата *E. necator* забележен је при два и четири пута већој концентрацији крезоксим-метила и трифлуксистробина од препоручене, те је установљено да између ова два фунгицида постоји укрштена резистентност. Од укупно 110 тестираних изолата, детекција G143A мутације > 95% алела за резистентност, забележена је код 61% изолата који су означени као резистентни, док су изолати са < 5% G143A алела означени као осетљиви, са укупним уделом од 9%. Преосталих 29% изолата сврстано је у категорију мешаних („mix“). Добијени резултати сугеришу да је резистентност на QoI фунгициде широко распрострањена код популација *E. necator* у Србији.

На свим локалитетима забележена је ниска ефикасност квиноксифена, док је проквиназид испољио углавном високу ефикасност у сузбијању *E. necator*. Од укупно осам тестираних популација, код пет је утврђен пораст при два и четири пута већој концентрацији квиноксифена од препоручене, док је проквиназид показао знатно јачу инхибицију, што указује да између ова два фунгицида није присутна укрштена резистентност, и да се проквиназид може успешно користити за сузбијање резистентних популација *E. necator* на квиноксифен.

Метрафенон и пириофенон испољили су високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе на локалитетима Сланкаменачки Виногради и Нештин, док је на локалитетима Радмиловац и Топола забележена ниска ефикасност. При концентрацијама ова два фунгицида, које су два и четири пута веће од препоручених, забележен је пораст колоније код изолата који воде порекло са четири од укупно шест тестираних локалитета, чиме је потврђено да између ова два фунгицида, који припадају групи арил-фенил кетона, постоји укрштена резистентност.

Смањена ефикасност DMI фунгицида у сузбијању *E. necator* утврђена је готово на свим локалитетима. Ниска ефикасност забележена је применом миклобутанила и пенконазола, док је нешто виша утврђена применом дифеноконазола и тебуконазола, а највиша применом мефентрифлуконазола. На локалитетима Сланкаменачки Виногради и Радмиловац, повећањем концентрације примене дифеноконазола остварена је висока ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице, док на локалитетима Топола и Нештин то није био случај. Код изолата који воде порекло са десет од укупно дванаест локалитета,

забележен је пораст мицелије при два и четири пута већој концентрацији миклобутанила од препоручене, односно при два пута већој концентрацији тебуконазола од препоручене, док је при четири пута већој концентрацији тебуконазола остварена потпуна инхибиција. Дифеноконазол је испољио знатно јачу инхибицију, тако да је значајан пораст изолата са шест од укупно дванаест локалитета забележен при препорученој концентрацији, а при два и четири пута већој концентрацији утврђена је висока инхибиција.

Од 106 тестираних, Y136F мутација детектована је код 45 изолата. У оквиру популација где су изведени огледи ефикасности, само код појединих изолата је детектована ова мутација, док је у три комерцијална винограда, код свих тестираних изолата утврђено присуство ове мутације. У зависности од тога колико је мутација распрострањена у оквиру једне популације, зависи и развој укрштене резистентности, па је закључено да детекција Y136F мутације не значи нужно да ће доћи до развоја укрштене резистентности у оквиру једне популације, већ је за тај процес највероватније одговорна спрега најмање два механизма резистентности.

Висока ефикасност флуксапироксада и флуопирама, потврђена је на свима локалитетима и применом ова два фунгицида остварена је највиша ефикасност у сузбијању *E. necator*. На два локалитета забележена је ниска, а на два висока ефикасност боскалида у сузбијању *E. necator*. Спироксамин и цифлуфенамид углавном су испољили високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе на свим локалитетима.

Испитивањем различитих модела у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, утврђена је висока ефикасност применом модела 3, 4 и 5, који се нису разликовали по ефикасности у односу на стандардни програм заштите. Такође, имплементацијом ових модела у програме заштите винове лозе, може се редуковати број третирања и постићи значајно економичнија и еколошки прихватљивија производња.

Кључне речи: *Erysiphe necator*, винова лоза, укрштена резистентност, QoI фунгициди, азанафталени, арил-фенил кетони, DMI фунгициди, G143A мутација, Y136F мутација, real-time PCR

Научна област: Биотехничке науке

Ужа научна област: Пестициди

УДК број: 632.25:632.952(497.11)(043.3)

SENSITIVITY OF *ERYSIPHE NECATOR* POPULATIONS IN SERBIA TO FUNGICIDES WITH DIFFERENT MODES OF ACTION

Abstract

The aim of this doctoral thesis was to investigate, using standard and molecular methods, whether the sensitivity of *E. necator* populations to the main fungicides used to control this pathogen in Serbia has changed. Field trials, bioassays and molecular analyses were carried out from 2019 to 2023. Samples of infected grapevine leaves were collected from an experimental site and several commercial, extensive and baseline vineyards to perform leaf disc bioassays and molecular analyses. For molecular detection of the mutations G143A and Y136F, which are typical for populations of *E. necator* resistant to QoI and DMI fungicides, the ARMS-SYBR Green real-time PCR technique with specific primers was used.

Low efficacy of QoI fungicides (kresoxym-methyl, trifloxystrobin and pyraclostrobin) was observed in field trials at each site, and negative efficacy was even observed at two sites. In leaf disc bioassays, eight of twelve populations of *E. necator* tested, grew significantly on two and four times recommended concentrations of kresoxym-methyl and trifloxystrobin, and cross-resistance was found between them. Of the 110 isolates, the G143A mutation was detected in 61% of isolates with >95% of the G143A allele, while 9% of isolates with <5% of the G143A allele were classified as sensitive and 29% of isolates were classified as mixed. These results indicate that *E. necator* populations are widespread in Serbian vineyards.

At each site, quinoxyfen showed low efficacy in controlling grapevine powdery mildew, while proquinazid showed high efficacy. Of eight populations tested, isolates from five populations grew significantly on two and four times higher concentrations of quinoxyfen than recommended, while proquinazid showed more significant inhibition than quinoxyfen, suggesting that there is no cross-resistance between them and that proquinazid could be used to control quinoxyfen-resistant populations.

Metrafenone and pyriofenone showed high efficacy in the control of grapevine powdery mildew at Slankamenački Vinogradi and Neštin sites, while low efficacy was observed at Radmilovac and Topola sites. Colony growth was observed in isolates from four out of six tested sites at concentrations two and four times higher than the recommended concentrations of these two fungicides, suggesting that cross-resistance between aryl-phenyl ketone fungicides exists.

Reduced efficacy of DMI fungicides in the control of *E. necator* was observed at each site. Low efficacy was observed after the application of myclobutanil and penconazole, while higher efficacy was obtained with difenoconazole and tebuconazole and the highest with mefentrifluconazole. At Slankamenački Vinogradi and Radmilovac sites, an increase in difenoconazole concentration resulted in higher efficacy in the control of powdery mildew, while this was not the case at Topola and Neštin sites. Out of twelve populations tested, isolates from ten grew readily on two and four times higher concentrations of myclobutanil than the recommended one, i.e. on two times higher concentration of tebuconazole than the recommended one, while on four times higher concentration of the same fungicide the inhibition was complete. Difenoconazole showed significantly higher inhibition, i.e. significant growth was observed in isolates from six out of twelve populations only in the test with the recommended concentration, while the inhibition of difenoconazole was high at two- and fourfold higher concentrations.

Of 106 isolates tested, the Y136F mutation was detected in 45 isolates. In the populations where field trials were conducted, only several isolates carried this mutation, while in three

commercial vineyards this mutation was detected in every isolate tested. Depending on how widespread the mutation is in the population, the development of cross-resistance usually depends on it. It can therefore be concluded that the detection of the Y136F mutation does not necessarily mean that cross-resistance will develop within a population, but that the coupling of at least two resistance mechanisms is probably responsible for this process.

Within the SDHI fungicides, high efficacy of fluxapyroxad and fluopyram was confirmed at each site, and the application of these two fungicides resulted in the highest efficacy among all fungicides tested. For boscalid, low efficacy was observed at two sites (Topola and Radmilovac), while high efficacy in *E. necator* control was achieved at two other sites (Slankamenački Vinogradi and Neštin). Spiroxamine and cyflufenamid showed mostly high efficacy in control of grapevine powdery mildew at all sites.

When the various models for grapevine powdery mildew control were examined, a high efficacy was found for models 3, 4 and 5, which generally did not differ from the efficacy of the standard spraying program. In addition, the use of these models in grapevine protection programs can reduced the number of annual treatments and achieve significantly more economical and profitable production.

Keywords: *Erysiphe necator*, grapevine, cross-resistance, QoI fungicides, azanaphthalenes, aryl-phenyl ketones, DMI fungicides, G143A mutation, Y136F mutation, real-time PCR

Scientific field: Biotechnical Sciences

Scientific subfield: Pesticides

UDC: 632.25:632.952(497.11)(043.3)

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ	4
2.1. <i>Erysiphe necator</i> – таксономска припадност и порекло	4
2.2. Домаћини, распрострањеност и економски значај	4
2.3 Симптоми обољења	5
2.4. Епидемиологија.....	6
2.4.1. Казмотеције као извор примарног инокулума	6
2.4.2 Конидије као извор примарног и секундарног инокулума	8
2.5. Могућности сузбијања <i>E. necator</i>	9
2.5.1 Селекција отпорних сорти.....	10
2.5.2 Агротехничке и ампелотехничке (превентивне) мере.....	10
2.5.3 Биолошке мере	11
2.5.4 Хемијске мере.....	12
2.5.5 Модели (програми) заштите винове лозе од проузроковача пепелнице	13
2.5.6. Модели за прогнозу појаве <i>E. necator</i> и прецизно одређивање интервала примене фунгицида.....	17
2.6. Својства фунгицида од значаја за сузбијање <i>E. necator</i>	19
2.6.1 Елементарни сумпор.....	19
2.6.2 Динитрофенил-кродонати	21
2.6.3 QoI фунгициди	22
2.6.4 SDHI фунгициди	24
2.6.5 DMI фунгициди.....	27
2.6.6 Спирокетал-амини	29
2.6.7 Азанафталени	30
2.6.8 Арил-фенил кетони.....	31
2.6.9 Фенил-ацетамиди (цифлуфенамид).....	32
2.7 Развој резистентности <i>E. necator</i> на различите фунгициде	36
2.7.1. Резистентност <i>E. necator</i> на QoI фунгициде.....	36
2.7.2 Резистентност <i>E. necator</i> на DMI фунгициде	38
2.7.3 Резистентност <i>E. necator</i> на SDHI фунгициде.....	40
2.7.4 Резистентност <i>E. necator</i> на арил-фенил кетоне	42
2.7.5 Резистентност <i>E. necator</i> на азанафталене.....	43

3. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА	46
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	47
4.1. Огледи у пољу	47
4.1.1 Испитивање компаративне ефикасности фунгицида у сузбијању <i>E. necator</i>	47
4.1.2 Испитивање ефикасности различитих модела (програма) заштите винове лозе од проузроковача пепелнице (<i>E. necator</i>)	54
4.2. Прикупљање узорака и одржавање патогена	60
4.3. Утврђивање осетљивости популација <i>E. necator</i> на различите фунгициде у <i>in vivo</i> тестовима са лисним дисковима (биотестови са лисним дисковима).....	61
4.4. Молекуларна детекција и карактеризација резистентности	64
4.4.1 Екстракција ДНК	64
4.4.2 Детекција G143A мутације употребом real-time PCR технике	64
4.4.3 Детекција Y136F мутације употребом real-time PCR технике.....	65
5. РЕЗУЛТАТИ	66
5.1 Огледи у пољу	66
5.1.1 Испитивања компаративне ефикасности фунгицида у сузбијању <i>E. necator</i>	66
5.1.2. Ефекти различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице (<i>E. necator</i>).....	105
5.2 Осетљивост популација <i>E. necator</i> на QoI фунгициде у биотестовима са лисним дисковима и qPCR детекција G143A мутације.....	114
5.2.1 Детекција G143A алела за резистентност.....	114
5.2.2 Осетљивост популација <i>E. necator</i> на QoI фунгициде.....	115
5.3. Осетљивост популација <i>E. necator</i> на азанафталене	121
5.4 Осетљивост популација <i>E. necator</i> на арил-фенил кетоне	123
5.5. Осетљивост популација <i>E. necator</i> на DMI фунгициде у биотестовима са лисним дисковима и qPCR детекција резистентности	126
5.5.1 Осетљивост популација <i>E. necator</i> на DMI фунгициде.....	126
5.5.2 Детекција Y136F мутације код популација <i>E. necator</i> резистентних на DMI фунгициде	131
6. ДИСКУСИЈА	136
6.1 Појава обољења у пољским огледима.....	137
6.2 Резистентност популација <i>E. necator</i> на QoI фунгициде.....	140
6.3 Резистентност популација <i>E. necator</i> на азанафталене.....	144
6.4 Резистентност популација <i>E. necator</i> на арил-фенил кетоне	147
6.5 Резистентност популација <i>E. necator</i> на DMI фунгициде	149
6.6 Ефекти осталих група фунгицида у сузбијању <i>E. necator</i> у пољским огледима	158

6.6.1 Ефикасност SDHI фунгицида	158
6.6.2 Ефикасност спироксамина и комбинације спироксамина са флуопирамом	161
6.6.3 Ефикасност цифлуфенамида и комбинације цифлуфенамида са дифеноконазолом	163
6.6.4 Ефикасност сумпора и мептил-динокапа	166
6.7 Анализа различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице	171
7. ЗАКЉУЧАК	178
8. ЛИТЕРАТУРА	182
ПРИЛОЗИ	200
БИОГРАФИЈА	216
Изјава о ауторству	217
Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада	218
Изјава о коришћењу	219

1. УВОД

Гајење винове лозе представља веома значајну културну и историјску тековину, која датира још из периода античке културе и старих Римљана. Први налази о гајењу винове лозе стари су преко 6000 година, што је сврстава у ред биљних врста које имају најдужу историју гајења (**Terral et al., 2010**). Вековима, грозђе и вино су извор пасије за људе широм света, а осим тога, резултати бројних медицинских истраживања указују на различита лековита и благотворна својства производа од грозђа (**Delmas et al., 2005**). Према последњим подацима из 2021. године, производња винове лозе на светском нивоу, одвија се на око 6,7 милиона хектара, а 5 земаља (Кина, Шпанија, Француска, Италија и Турска) заузимају 50% укупне производње. Укупан принос грозђа износи око 74 милиона тона годишње, док је целокупна производња вина процењена на 267 милиона хектолитара (**FAOSTAT, 2023**). У Србији, последњи подаци из 2021. године показују да се виноградарска производња одвија на нешто више од 20000 хектара, са годишњим приносом између 155000 и 160000 тона (**Републички завод за статистику, 2022**). Од укупне произведене количине грозђа, више од 70% се искористи за прављење вина, што указује на економски значај винове лозе за нашу земљу. Према виноградарској рејонизацији Србије, укупно постоје 22 рејона, од којих су производно најзначајнији: Јужнобанатски, Сремски, Млавски, Београдски, Шумадијски, Књажевачки, Нишки, Лесковачки, рејон Неготинске Крајине, рејон Три Мораве и Метохијски рејон (**Иванишевић и Јакшић, 2012**).

Винова лоза је изложена нападу већег броја патогена микозне, вирусне и бактериозне природе који у мањој или већој мери могу редуковати принос и квалитет грозђа, те је заштита од проузроковача биљних болести вероватно и највећи изазов за пољопривредне произвођаче (**Делибашић и сар., 2006; Moyer, 2011**). Највећу штету у производњи винове лозе причињавају фитопатогене гљиве и псеудогљиве попут: *Erysiphe necator*, *Plasmopara viticola*, *Botrytis cinerea*, *Phomopsis viticola*, *Guignardia bidwelli* и др (**Wilcox et al., 2015; Делибашић и сар., 2018**). Пепелница винове лозе, изазвана облигатним биотрофом *Erysiphe necator* (син. *Uncinula necator* (Schw.) Burr), економски је врло значајно и деструктивно обољење, и уколико се не спроведе адекватна хемијска заштита, може довести до изражених губитака. Овај патоген представља двоструку претњу, те осим што умањује принос, негативно утиче и на квалитет грозђа које се користи за производњу вина. Наиме, својом појавом на бобицама, патоген доводи до обезбојавања, накупљања киселина, промена органолептичких својстава и ароме, па је вино направљено од таквог грозђа, од стране технолога, окарактерисано као дефектно (**Darriet et al., 2002; Calon nec et al., 2004; Gadoury et al., 2007; Deliere et al., 2010**). Чак и умерена појава симптома обољења на бобицама може утицати на квалитет вина, али и смањење тржишне вредности стоног грозђа (**Calon nec et al., 2004**). С друге стране, услед присуства патогена, повећана је осетљивост, а смањена виталност ластара током зимских месеци, па су и пупољци подложнији измрзавању током периода ниских температура (**Halleen and Holz, 2001**). Додатно, рана инфекција бобица и појава симптома пепелнице на њима, за последицу има пуцање таквих бобица, које представљају улазна места за проузроковаче трулежи (**Gadoury et al., 2007**).

Патоген у већини екосистема широм света презимљава у облику казмотеција на зараженим листовима, чокотима или земљишту, а други вид одржавања патогена (у условима топлије климе) је у виду мицелије у спавајућим (мирујућим) пупољцима. У казмотецијама се образују аскуси са аскоспорама које врше примарне инфекције, и то најчешће у периоду између пуцања пупољака и цветања винове лозе. Примарне инфекције

представљају окидач за ширење болести, односно за појаву секундарних инфекција, које се касније одвијају помоћу конидија. Конидије се шире ветром и колонизују површинска ткива винове лозе, а највеће штете настају инфекцијом бобица, које су најосетљивије током заматања, тј. непосредно након фенофазе прецветавања (**Gadoury et al., 2012**).

Савремена заштита винове лозе од проузроковача пепелнице темељи се на принципима интегралне заштите биља, који подразумева интеграцију свих доступних мера. Међутим, примена фунгицида (системичних и протективних) у том систему је главно и најефикасније оружје у сузбијању *E. necator* (**Kunova et al., 2016; Warres, 2021**). Обично се годишње практикује примена 6-9 третирања, најчешће од фенофазе 4-5 развијених листова, до затварања гроздова (ВВСН 14-79) (**Lorenz et al., 1995**), а редуковање примарног инокулума и спречавање примарних инфекција су круцијалани сегменти успешне заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, јер је секундарне инфекције знатно теже зауставити (**Caffi et al., 2012**). Од протективних фунгицида, неизоставан део готово свих програма заштите је сумпор, а осим њега контактним својствима се одликује и мептил-динокап. Ипак, примена системичних фунгицида чини основу заштите винове лозе од проузроковача пепелнице. Ови фунгициди карактеришу се куративним и ерадикативним деловањем, а испољавају високу биолошку ефикасност у малим количинама примене. Најчешће се користе фунгициди из следећих група: DMI фунгициди (миклобутанил, тебуконазол, дифеноконазол, пенконазол, мефентрифлуконазол), амини-морфолини (спироксамин), QoI фунгициди (крезоксим-метил, трифлуксистробин, пираклостробин), SDHI фунгициди (флуксапироксад, флуопирам, боскалид), азанафталени (квикосифен и проквиназид) и арил-фенил кетони (метрафенон, пириофенон) (**Colcol, 2008; Moyer, 2011; Gadoury et al., 2012; Graf, 2017; Warneke, 2018; Kunova et al., 2021; Warres, 2021; FRAC, 2023**).

Све набројане групе специфичних фунгицида, према **FRAC-у (2023)**, сврстане су у класу средње до високо ризичних са аспекта развоја резистентности, а бројна истраживања широм света указују да је дошло до промена осетљивости популација *E. necator* и развоја резистентности, нарочито на QoI, DMI, SDHI фунгициде, азанафталене и фунгициде које припадају групи арил-фенил кетона (**Dèlye et al., 1997; Baudoin et al., 2008; Colcol 2008; Rallos 2012; Frenkel et al., 2015; Kunova et al., 2016; Feng et al., 2018; Cherrad et al., 2018**). Узимајући у обзир ове чињенице, пољопривредним произвођачима и стручним лицима је јако тешко да одаберу адекватне фунгициде и да их позиционирају у програмима заштите. Стога је врло важно водити опсежан мониторинг, како би се, с једне стране, у програме заштите интегрисали фунгициди који се одликују високом ефикасношћу и с друге стране, креирала одговарајућа антирезистентна стратегија и одложила појава резистентних популација.

У Србији, последњих десетак година евидентан је пораст површина под виновом лозом, са сортиментом који је углавном осетљив према *E. necator*. Резултата и података о ефикасности фунгицида у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе у претходних 10 година у нашој земљи и суседним земљама готово да нема, а последњи резултати датирају још с почетка 21. века (**Миладиновић и сар., 2007а; 2008**). Узимајући у обзир да се поједине критичне групе фунгицида експлоатишу дужи низ година у нашој земљи, а да недостају подаци о њиховој ефикасности, али и о статусу осетљивости популација *E. necator* на њих, основни циљеви ове докторске дисертације су утврђивање осетљивости популација *E. necator* на различите фунгициде, идентификација резистентних популација

патогена и креирање одрживих програма заштите винове лозе од проузроковача пепелнице у Србији.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. *Erysiphe necator* – таксономска припадност и порекло

Erysiphe necator Schw. (син. *Uncinula necator* (Schw.) Burr.), анаморф *Oidium tuckeri* Berk. је облигатни, биотрофни паразит који припада раздели Ascomycota, класи Leotiomycetes, реду Erysiphales и фамилији Erysiphaceae. Гљива је откривена у Америци 1834. године (Schweinitz). У Европу је пренета 1845. године. Анаморфни стадијум описао је 1847. године Вилијам Такер (William Tucker), а присуство клеистотеција (казмотеција) описао је 1892. године G. Couderc. Класификација рода пре 1980. године базирана је на одликама зрелог аскокарпа: а) број асуса; б) морфологија (тип) апендицеса (**Gadoury and Pearson, 1991; Gadoury et al., 2012**). Овакав начин класификације касније је превазиђен, па је нова класификација извршена на основу филогенетске анализе секвенце ITS региона рибозомалне ДНК која је у корелацији са онтогенезом и морфологијом конидија (**Braun, 2011**).

2.2. Домаћини, распрострањеност и економски значај

Патоген *E. necator* напада биљке из фамилије *Vitaceae*, укључујући родове *Vitis*, *Cissus*, *Partenocissus* и *Ampelopsis*. Економски најзначајнији домаћини су свакако из рода *Vitis*, са типичним представником, европском виновом лозом (*Vitis vinifera*) која је јако осетљива према *E. necator*. Штавише, већина најзначајнијих сората (Chardonnay, Riesling, Frankovka, Malvasia и друге) које се гаје широм света испољавају изражену осетљивост према овом патогену (**Pearson and Gadoury, 1992; Miazzi et al., 2010**).

Паразит је распрострањен готово у свим рејонима гајења винове лозе. Осим што може доћи до великих губитака у приносу (најчешће су губици 50-80%), знатно је умањен и квалитет грожђа за производњу вина. У Србији (у вршачком, фрушкогорском и косовско-метохијском виногорију) и Црној Гори (околина Подгорице) забележене су велике штете 50-их и 60-их година прошлог века, а губици у приносу су се кретали од 50 до 100% (**Миладиновић и сар., 2007а**). Велике штете забележене су и широм Европе, нарочито у Северној Италији и околини Бордоа, где *E. necator* често прави веће штете од проузроковача пламењаче (*P. viticola*) и означен је као економски најзначајнији патоген винове лозе (**Bruneli et al., 1998; Jailloux, 1999**). О значају патогена сведочи и чињеница да се за куповину фунгицида за његово сузбијање, утроше стотине милиона долара годишње (**Miazzi et al., 2003**).

Гроздови са симптомима пепелнице су јако лошег квалитета, јер патоген у великој мери утиче на смањење садржаја шећера, фенола и антоцијана, као и повећање садржаја киселина и хидросулфида у бобицама, те долази до дисколорације и погоршања органолептичких својстава, нарочито ароме (редукција 3-меркаптохексанола) и квалитета вина (**Calonnec et al., 2004**). Вино од заражених бобица често поприма непријатан мирис који подсећа на мирис печурака, који се јавља најчешће након алкохолне ферментације (**Darriet et al., 2002; Deliere et al., 2010**). Поједини аутори наводе да појава симптома пепелнице на више од 3% гроздова у винограду може утицати на квалитет и укус вина, па поједине винарије у Сједињеним Америчким Државама (САД) приликом откупа грожђа толеришу максимално до 3% заражених гроздова, док је у Јужној Африци граница постављена на 5% заражених гроздова (**Halleen and Holz, 2001; Calonnec et al., 2004**). У производњи стоног грожђа, уколико дође до раних инфекција, ткиво бобица је подложније

пуцању, нарочито како се ближи период сазревања, што драстично смањује дужину складиштења стоног грожђа. Штавише, у Јужној Африци, произвођачи стоног грожђа плаћају новчане пенале уколико се током извоза установи присуство гроздова са симптомима пепелнице (**Halleen and Holz, 2001**).

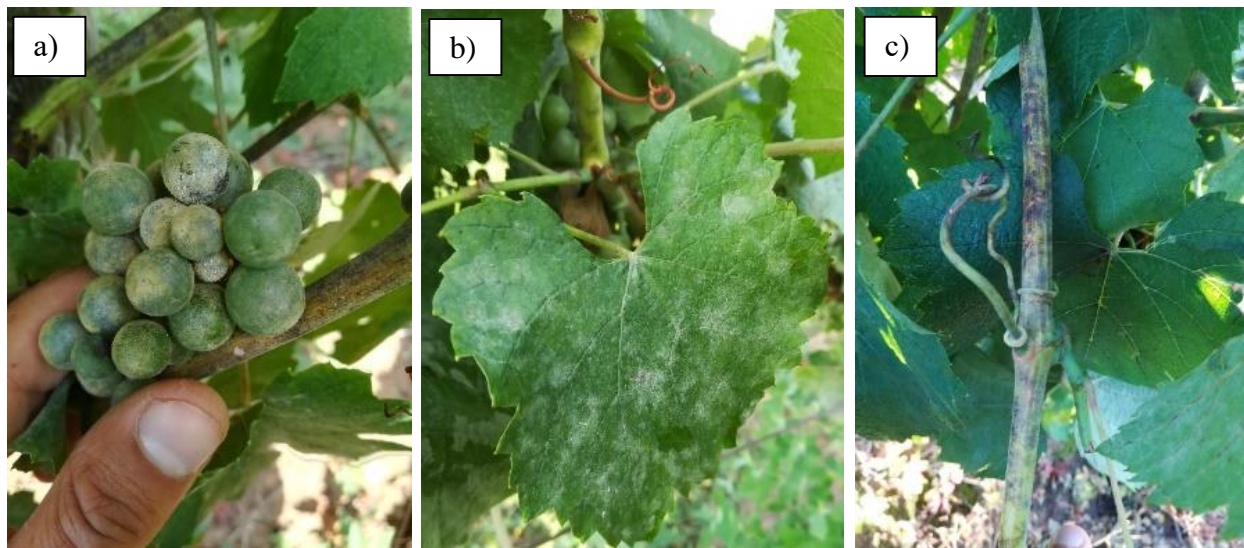
Услед инфекције, забележен је и слабији пораст ластара винове лозе, на зараженом лишћу смањен је интензитет фотосинтезе, а смањене су и резерве биљних хранива за идућу сезону и уочено је слабије сазревање ластара. Као последица, током зимских месеци повећава се осетљивост ластара према ниским температурама, па су и пупољци подложнији измрзавању (**Halleen and Holz, 2001**). У условима јачег напада, заражене бобице пуцају и на тај начин могу представљати улазна места за патогене попут *B. cinerea* и друге, који доводе до тзв. „киселе трулежи“ (**Gadoury and Pearson, 1991**). Такође, повећан је садржај испарљивих једињења попут етил-ацетата и сирћетних киселина, који привлаче инсекте који се касније хране на бобицама (**Gadoury et al., 2007**).

2.3 Симптоми обољења

Обољење се може манифестовати на свим зеленим биљним деловима винове лозе: листовима, гроздовима, цветовима, рашљикама и бобицама. У ужем смислу, присуство видљиве пепељасте колоније представља знак присуства патогена, а не симптом инфекције, али се знакови и симптоми у случају овог паразита представљају заједнички. Колоније пореклом од аскоспора најчешће се срећу на доњим, првим листовима, ближе чокоту, а симптоми се могу манифестовати и у виду слабо приметних, хлоротичних пега на горњој површини листа. У почетку, младе колоније (које нису спорулисале) су беличасте боје са металеним сјајем, округле, величине неколико милиметара до неколико центиметара. Могу се јавити у групама или бити појединачно распоређене и захватити мањи или већи део листа. Касније, колоније постају сивкасте и у оквиру њих се стварају казмотеције. На нападнутим листовима уочавају се некротичне зоне заражених епидермалних ћелија и услед јаче инфекције листови се суше и превремено опадају. Листови су најосетљивији према инфекцији када су развијени до половине од укупне величине и осетљивост углавном опада са старењем листа. Међутим, листови не могу у потпуности бити имуни према инфекцији, тако да се и на старијим листовима могу уочити симптоми патогена у виду пепељасте превлаке (**Haalen and Holz, 2001; Gadoury et al., 2012**).

Уколико се оствари зараза младара, симптоми се, у почетку, уочавају у облику тамно зеленкастих дифузних зона на младарима, који касније попримају браонкасто-црвенкасту боју, а у каснијим стадијумима симптоми се манифестују у виду мрежастих ожиљака на површини ластара (након процеса лигнификације). Изузетно јаке инфекције могу довести до потпуног губљења виталности ластара, неравномерног сазревања и, у најгорем случају, њиховог одумирања (**Halleen and Holz, 2001; Gadoury et al., 2012; Fernandez-Gonzales et al., 2013**). Зараза се може остварити на цвастима и бобицама, а бобице су нарочито осетљиве током ранијих фаза развића и то у периоду заметања и формирања бобица (2 mm у пречнику), и на њима се уочава пепељаста превлака (**Stark-Urnau and Kast, 1999; Gadoury et al., 2003**). Уколико се оствари јака зараза бобица и рано јаве симптоми пепелнице, епидермално ткиво заостаје у порасту, што касније узрокује пуцање бобица. На бобицама се јавља дифузна колонија, која њиховим старењем и сазревањем одумире, а нарочито након спирања кишом, може се уочити мрежаста некроза епидермалних ћелија и такве бобице су склоније пуцању (**Gadoury et al., 2007**). Онтогенетска отпорност испољава се отприлике 3-4 недеље након завршетка цветања већине сората винове лозе (**Ficke et al.,**

2003; 2004; Frenkel et al., 2010). Уколико паразит презими мицелијом у пупољцима, изданци који се развијају из таквих пупољака су у потпуности прекривени белом превлаком (симптом познат као тзв. „бели младари“), мада се они јако ретко срећу (Gadoury et al., 2012), нарочито у нашим агроколошким условима.



Слика 1. Симптоми пепелнице винове лозе на: а) грозду; б) листу; с) младарима (ориг.)

2.4. Епидемиологија

Гљива може презимети на два начина: у виду мицелије (или конидија) у дормантним (спавајућим) пупољцима и/или у виду казмотеција на зараженим листовима, земљишту и чокотима, а од типа примарног инокулума зависи и почетак епидемија у винограду. Инфекција аскоспорама у значајној мери зависи од климатских фактора, попут кишних падавина које су неопходне за разношење инокулума, док презимљујућа мицелија у мирујућим пупољцима може колонизовати изданке и у мање рестриктивним условима спољашње средине (Pearson and Gadoury, 1987; Gadoury and Pearson, 1991; Cortesi et al., 1997).

2.4.1. Казмотеције као извор примарног инокулума

Казмотеције су затворене, лоптасте плодноне творевине типичне за гљиве - проузроковаче пепелнице. Оне најчешће представљају примарни извор инокулума, а негде и једини, поготово у подручјима где патоген не може презимети мицелијом, тј. у областима са нешто хладнијим зимама (Sall, 1980; Gadoury and Pearson 1988; Cortesi et al., 1997, 2008; Gee et al., 2000; Grove, 2004). Паразит ствара ситне, сферичне казмотеције, преваходно на површини заражених листова, али и на бобицама, рашљикама и ластарима. У моменту пуне зрелости, казмотеције се разносе кишним капима на чокоте винове лозе, земљиште или доспевају на површину земљишта у остацима зараженог лишћа (Gadoury and Pearson, 1991; Cortesi et al., 1995; Rossi et al., 2010). Највећи број казмотеција презими у пукотинама коре чокота и такве казмотеције су највиталније, за разлику од оних које се одржавају у остацима зараженог лишћа и на ластарима (Grove, 2004). Формирање и разношење казмотеција дешава се најчешће након бербе и непосредно пре опадања лишћа (Cortesi et al., 1995), али је уочено, у Италији, да се могу разносити већ од половине августа

па све до потпуног опадања лишћа, готово до средине новембра (**Rossi et al., 2010**). Патоген може продуковати огроман број казмотеција, као што је случај у истраживању спроведеном у северном делу Италије, где се број новонасталих казмотеција, према проценама аутора, кретао у распону 18-40 милиона по хектару (**Legler et al., 2012**).

У казмотецијама се образује 4-6 аскуса са 4-8 аскоспора у аскусу (**Gadoury and Pearson, 1990**), које се ослобађају најчешће у периоду између пуцања пупољака и цветања винове лозе, али се могу наћи у винограду чак и током јесени, а њихова основна улога у циклусу развоја је изазивање примарних инфекција листова. Обично се период избацивања аскоспора одвија до почетка цветања винове лозе, али тај период може бити продужен у зависности од метеоролошких услова који диктирају развој паразита у почетном делу вегетационе сезоне. Примарне инфекције проузроковане полним спорама - аскоспорама представљају окидач за ширење епидемија болести, које су касније вођене асексуалним (бесполним) спорама, тј. конидијама (**Caffi et al, 2012; Rossi et al., 2010; Legler et al., 2014**). У истраживању које су спровели **Rossi et al. (2010)**, образовање казмотеција започиње крајем августа и завршава се средином новембра, и у том периоду 34% казмотеција садржи зреле аскоспоре, док 48% има незреле. Највећи број зрелих аскоспора уочен је у периоду између пуцања пупољака и цветања винове лозе, док је знатно мањи број (<10%) примећен након цветања. Почетне инфекције дешавају се у периоду образовања базалног лишћа које бива заражено аскоспорама, а затим се зараза шири на друге зелене биљне делове. Према резултатима истраживања **Moyer et al. (2014)**, 50% укупних аскоспора у виноградима ослободи се пре него што започне фенофаза пуцања пупољака винове лозе, а други део се ослободи између фенофазе пуцања пупољака и цветања. Када се аскоспоре ослободе, оне клијају и формирају колоније, на којима се касније стварају конидиофоре са конидијама које врше секундарне инфекције (**Gadoury and Pearson, 1990**).

Физиолошки зрела казмотеција пуца у контакту са слободном водом, па се на тај начин ослобађају аскуси са аскоспорама, које излећу под притиском кроз отвор на врху аскуса (**Gadoury and Pearson, 1990**). Оптимална температура за продукцију казмотеција износи 20 °C, док се нешто мањи број формира при температурама 15 и 25 °C, а врло мали број казмотеција је примећен при температурама 10 и 30 °C (**Legler et al., 2012**). При температурама између 20 и 25 °C, потребно је 25 дана да би 50% казмотеција неке популације постало физиолошки зрело, док се при температури од 16 °C, тај период продужава на 33 дана (**Gadoury and Pearson, 1991**). Како би се аскоспоре ослободиле неопходно је да падне најмање 2,5 mm кише и да температура ваздуха буде изнад 10 °C (у просеку 11°C и више) са периодом влажења дужим од 2,5 часова, када долази до њихове убрзане дисперзије (**Gadoury and Pearson, 1991; Jailloux et al., 1999**). **Rossi et al. (2010)** пак указују да се мали проценат аскоспора може ослободити чак и када су падавине мање од 2 mm, а када је период влажења, који није инициран кишом, дужи од 3,5 часова. Према резултатима њихових истраживања, преко 90% аскоспора постану зреле када дође до акумулације, и то просечно 153 степен дана након бубрења пупољака (100-210 степен дана), док **Jailloux et al. (1999)** наводе да је од новембра до првог избацивања аскоспора (на пролеће) неопходно да дође до акумулације температуре у просеку од 1100 °C. Оптимална температура за остваривање инфекције аскоспорама креће се у распону од 20 до 25 °C и релативној влажности ваздуха од 100%, док при температурама испод 5 °C и изнад 31 °C не долази до инфекције и формирања апресорија код аскоспора (**Gadoury and Pearson, 1991**). Ниске просечне температуре (<12 °C) и већа количина падавина (> 90 mm) од бубрења пупољака до цветања не погодују развоју примарних инфекција, док у годинама са

умереном количином падавина (15-65 mm) и вишом просечном температуром ($> 12^{\circ}\text{C}$) појава болести је значајно већа (**Jailloux et al., 1999**). Фактори као што су магла и продужена роса такође су доведени у везу са динамиком ослобађања аскоспора (**Halleen and Holz, 2001**).

2.4.2 Конидије као извор примарног и секундарног инокулума

У подручјима са релативно благом зимом, патоген презимљава у виду мицелије (или конидија) у мирујућим латералним пупољцима. У пролеће, из захваћених пупољака, развијају се ластари који бивају систематски захваћени мицелијом гљиве, а који су у литератури описани као бели ластари. Гљива *E. necator* колонизује спољну површину младих пупољака, као и околна ткива стварајући на тим деловима мицелију. Пупољци су најосетљивији према инфекцији у фенофази 3-6 развијених листова (BVCH 13-16), када долази до интензивне колонизације унутрашњости пупољака преко заражене површине (**Rugner et al., 2002; Rumbolz and Gubler, 2005**). Убрзо након отварања пупољака, младари бивају у потпуности прекривени белом мицелијом, а на њима се образују конидије које изазивају секундарне инфекције суседног лишћа и гроздова (**Cortesi et al, 1995**). Бели ластари најчешће се уочавају 3-8 недеља након пуцања пупољака. Истраживање које су спровели **Hajjeh et al. (2008)** у јужној Италији указује да осим казмотеција, у више од 50% винограда патоген презимљава помоћу мицелије. Сличне резултате у својим истраживањима публиковали су **Rugner et al. (2002)**, који су установили да је презимљавање у мирујућим пупољцима доминантан начин одржавања патогена у виногорјима у јужним областима Немачке. Након примарних инфекција, конидије паразита шире се са површине ткива винове лозе. Гљива апсорбује нутријенте и полако убија епидермалне ћелије. У зависности од температуре, после 5-32 дана, гљива спорулише и новонастале бесполне споре - конидије шире се ветром и изазивају секундарне инфекције (**Halleen and Holz, 2001**). Конидије са листа служе као инокулум за инфекцију цветова и бобица (**Savary et al., 2009**). Осим што представљају примарни извор инокулума, конидије, у већини агроколошких система где се примарне инфекције доминантно остварују аскоспорама, имају много значајнију улогу у секундарним инфекцијама (**Moyer et al., 2014, 2016**).

Температуре које фаворизују клијање конидија крећу се између 20 и 27 $^{\circ}\text{C}$, са оптималном температуром од 25 $^{\circ}\text{C}$ (**Halleen and Holz, 2001; Bendek et al., 2007**). Клијање се прекида при температурама од 5 и 35 $^{\circ}\text{C}$, а споре изумиру након 4 часа излагања температури од 40 $^{\circ}\text{C}$ (**Gadoury et al., 2012**), док **Peduto et al. (2013)** наводе да је краткотрајно излагање конидија патогена температурама између 36 и 38 $^{\circ}\text{C}$ летално. Инфекција конидијама може се одвијати у опсегу температура од 6 до 32 $^{\circ}\text{C}$, а изнад 32 $^{\circ}\text{C}$ конидија не може остварити инфекцију (**Gadoury et al., 2012**). Период инкубације варира у зависности од температуре, са оптимумом од 13 до 14 дана при температурама између 20 и 23 $^{\circ}\text{C}$ (**Bendek et al., 2007**). Гљива *E. necator* поседује огроман потенцијал за брзу репродукцију, стварајући између 1300 и 2270 конидија по листу по генерацији при температурама између 22 и 26 $^{\circ}\text{C}$. Током већег дела вегетације, патоген се шири конидијама, просечном брзином ветра од 2,3 m/s, што омогућава ширење конидија са лишћа, нарочито младих конидија (12-24 дана старости), док се старије споре теже разносе (**Halleen and Holz, 2001**). Сем ветра, и друге агротехничке и помотехничке мере које се спроводе у винограду могу утицати позитивно на ширење спора. У истраживању **Willocquet and Clerjeau (1998)**,

третирање винограда орошивачима (атолизерима) који функционишу по принципу високог радног притиска, доводи до стварања јаког ветра и интензивног струјања ваздуха који узрокује појачану дисперзију спора.

Клијање конидија остварује се у ширем опсегу вредности релативне влажности ваздуха. При релативној влажности између 47 и 90%, клијање конидија се повећава, док се изнад 90% смањује. Према **Carrol and Wilcox (2003)**, оптимална влажност ваздуха за развој секундарних инфекција је 85%. При температури од 20 °C, конидија може клијати чак и при релативно ниској влажности ваздуха (33-35%) (**Bendek et al., 2007**). **Gadoury and Pearson (1990)** наводе да релативна влажност има већи утицај на спорулацију него на клијање конидија. Кондијски стадијум *E. necator* указује на његов ксерофитни карактер. Дакле, конидија је адаптирана да клија у релативно сушним условима захваљујући хигроскопности саме конидије, која садржи велику количину растворљивих супстанци у вакуолама, за разлику од аскоспора чија је цитоплазма гранулирана и окружена великим капљицама масти, па им је спољашња вода неопходна за клијање (**Gadoury and Pearson, 1990**). Слободна вода било пореклом од кише, магле или наводњавања (орошавања), може изазвати ненормално клијање конидија и њихово пуцање (**Blaich et al., 1989**), а осим тога може спирати конидије са површине листова и бобица. Спорулација паразита осим присуства слободне воде, директно зависи од температуре ваздуха, па у условима када је присутна слободна вода, при температурама од 19 и 30 °C, знатно је смањена спорулација, док се при температурама између 22 и 26 °C спорулација драстично повећава (**Halleen and Holz, 2001**). У засењеним условима, и у условима слабе дифузне светлости, повећано је клијање конидија и развој мицелије, у односу на услове директне изложености патогена сунцу, јер се на тај начин патоген штити од штетног ултраљубичастог зрачења (**Austin and Wilcox, 2012**). Светлост је неопходна како би се иницирала спорулација, док у условима потпуне таме патоген није у могућности да спорулише. Спорулација је оптимална у условима 12 сати дан, 12 сати ноћ (**Gadoury et al., 2012**). Такође, утврђено је да директна изложеност UV зрачењу узрокује смањено клијање конидија, формирање апресорија и спорулацију патогена, нарочито у комбинацији са високим температурама (**Willoquet et al., 1996**).

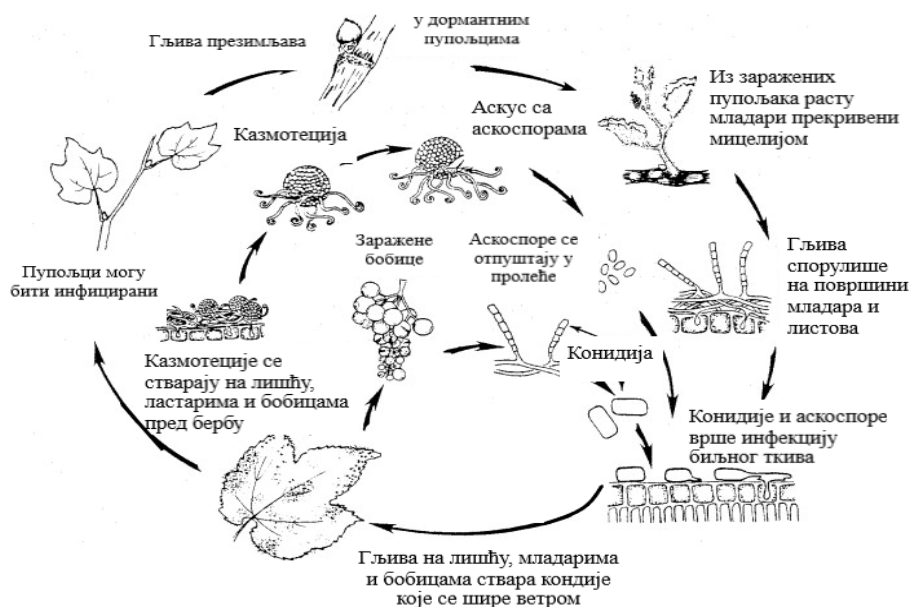
2.5. Могућности сузбијања *E. necator*

Заштита винове лозе од проузроковача пепелнице темељи се на принципима интегралне заштите биља, која укључују како превентивне тако и директне мере сузбијања. Одабир адекватних мера сузбијања овог паразита је предуслов за креирање стабилне и профитабилне производње, која подразумева добијање високо квалитетног грожђа. Да би се спровеле мере сузбијања неопходно је познавати специфичну природу патогена, која заштиту винове лозе чини изузетно комплексном и изазовном. Мере сузбијања се могу поделити у неколико основних група:

- Селекција отпорних сорти;
- Превентивне мере – агротехничке и ампелотехничке;
- Биолошке мере;
- Хемијске мере;
- Модели за прогнозу појаве болести и прецизно одређивање интервала за примену фунгицида.

Највећи фокус усмерен је на хемијске мере, које су и данас остале најзначајнији вид заштите винове лозе од проузроковача пепелнице.

Слика 2. Циклус развоја *E. necator* (адаптиран цртеж Sticht-a у публикацији **Pearson and Goheen, 1988**)



2.5.1 Селекција отпорних сорти

Гајење мање осетљивих или толерантних сорти једна је од мера која се према литературним подацима препоручује у ограничавању развоја *E. necator*. Генерално посматрано, већина комерцијално перспективних сорти које се гаје у свету је у мањем или већем степену осетљива према проузроковачу пепелнице. Обзиром да те сорте припадају врсти *V. vinifera*, потенцијално решење у стварању отпорних сорти треба тражити у генетици других врста рода *Vitis* (*V. labrusca*, *V. ripestris*, *V. rotundifolia*, *V. riparia* и др.), које су знатно отпорније, али су друге пожељне особине (садржај шећера, фенола, антоцијана, органолептичка својства) код ових врста лимитирајуће у односу на *V. vinifera*. Једно од могућих решења била би укрштање *V. vinifera* и *V. labrusca* (**Qiu et al., 2015; Atak et al., 2017**). Када је реч о економичности и о утицају на животну средину и здравље људи, гајење отпорних сорти би свакако била најцелисходнија опција, али да би се добиле сорте са високом отпорношћу неопходно је створити сорте/хибриде које ће задовољити све комерцијалне, односно тржишне критеријуме, а при том имати стабилну и дуготрајну отпорност, што је изузетно тежак и изазован посао (**Gadoury et al., 2012**).

2.5.2 Агротехничке и ампелотехничке (превентивне) мере

Мерама превентивне заштите, могуће је смањити интензитет појаве симптома пепелнице. Једна од превентивних мера, нарочито уколико се планира садња осетљивих сорти према *E. necator*, јесте подизање винограда на проветреним локацијама са оријентисањем редова према сунцу (**Миладиновић и сар., 2007а**). Зелена резидба и

смањење бујности винове лозе, уклањање листова око гроздова које ће повећати проветравање у зони гроздова, могу да смање микроклиматску влажност и повећају осунчаност гроздова, што у одређеној мери може негативно деловати на развој патогена (**Gadoury et al., 2012**). Опште је познато да у засени долази до фаворизованог клијања конидија и раста мицелије патогена, док директна изложеност UV зрацима смањује клијање конидија, формирање апресорија и спорулацију патогена. Редовним резивањем требало би обезбедити што више сунчеве светлости за листове, ластаре и гроздове чиме се ствара микроклима која не одговара патогену, а обезбеђује се боља покривеност ових органа фунгицидима (**Austin and Wilcox, 2012; Ивановић и Ивановић, 2017**). Међутим, код примене мере дефолијације треба бити врло обазрив, јер прерано скидање листова може утицати на повећану изложеност гроздова сунцу, што повећава ризик од појаве ожеготина и превременог сазревања гроздова услед наглог накупљања шећера. Једна од мера која се препоручује је и избалансирано ђубрење азотом или редуковање азотних ђубрива, нарочито код јако бујних сорти као што је Chardonnay, како би се утицало на смањење интензивног пораста младог ткива које је осетљиво на *E. necator* (**Миладиновић и сар., 2007а**).

2.5.3 Биолошке мере

Практична примена биолошких агенаса у сузбијању проузроковача пепелнице је прилично ограничена. Неколико испитивања указује на деловање природних непријатеља на супресију патогена у пољским условима, али не до нивоа који би резултирао адекватној и комерцијално прихватљивој заштити (**Gadoury et al., 2012**). На тржишту се налази и комерцијално доступан препарат AQ10 на бази гљиве *Ampelomyces quisqualis*, који поседује одређену ефикасност у сузбијању *E. necator*. Наиме, ова гљива се у природним условима налази у виноградима, обично паразитира колоније патогена, и то нешто касније у циклусу развића *E. necator*. Помоћу хифе која се образује након клијања њене конидије, *A. quisqualis* може колонизовати и пенетрирати хифу *E. necator* након специфичног препознавања са домаћином. Након тога, антагониста је у могућности да формира пикниде унутар конидиофора, конидија и недозрелих казмотеција патогена. У условима повећане влажности може у потпуности да прекине спорулацију гљиве и уништи недозрелу казмотецију (**Falk et al., 1995; Halleen and Holz, 2001**). У Италији и САД, комерцијални препарат AQ10 користи се у програмима заштите винове лозе третирањем непосредно пре и након бербе, када започиње формирање казмотеција у виноградима. Управо из тог разлога овај препарат се примењује првенствено у циљу редуковања презимљујућег инокулума за наредну вегетациону сезону (**Falk et al., 1995; Caffi et al., 2013**).

Осим *A. quisqualis*, потенцијал у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, пронађен је и код једне врсте квасаца из рода *Tilletiopsis*. Могућност сузбијања *E. necator* постоји и код неких биљних (етеричних) уља, минералних уља, калијум и натријум бикарбоната, фосфата и неорганичних соли, али је њихова комерцијална употреба јако ограничена (**Halleen and Holz, 2001**).

Микопаразитна гриња *Orthotydeus lambi*, која је карактеристична за источно подручје Северне Америке, може деловати супресивно на колоније *E. necator*, али је популација ове гриње у природи прилично мала да би могла значајније да утиче на смањење инокулума овог патогена (**Gadoury et al., 2012**).

2.5.4 Хемијске мере

Резултати бројних истраживања спроведених у претходних 30 година која се тичу, пре свега, епидемиологије и биологије *E. necator*, утицали су на промене и извесна унапређења у стратегијама заштите винове лозе од овог патогена. У областима где патоген презимљава у виду казмотеција, програми заштите усмерени су ка сузбијању примарних инфекција, па се са применом фунгицида креће врло рано, готово на самом почетку вегетационе сезоне (Gadoury et al., 1997; Gadoury et al., 2001; Carisse et al., 2009 a,b; Moyer, 2011). У литератури се помиње и апликација фунгицида након бербе, односно непосредно пред опадање лишћа употребом минералних уља и кречног сумпора, који испољавају изванредан ефекат у редуковању презимљујућег инокулума и одлагању примарних инфекција (Gadoury et al., 1994; Moyer, 2011).

Сузбијање *E. necator* базира се на употреби системичних и протективних фунгицида. У циљу сузбијања овог патогена пољопривредни произвођачи врше примену фунгицида претежно у фиксним интервалима – календарски или у односу на фенофазу. Често, такви програми заштите укључују третирања која су или непотребна или супротно, закаснила (Caffi et al., 2013). Фармери праве највећу грешку одлажући примену фунгицида све до момента док симптоми пепелнице не буду примећени у винограду, када је касно за било какву интервенцију, јер се симптоми манифестују тек неколико недеља од момента остварене инфекције. Када се на то надовежу и секундарне инфекције проузроковане конидијама, изузетно је тешко зауставити епидемију (Magarey and Moyer, 2010; Sozzani et al., 2010). Gubler et al. (1999) су доказали да се употребом модела који предвиђају инфекцију *E. necator*, број третирања може смањити у просеку за 2 до 3 годишње у односу на систем календарског програма заштите. С друге стране, према истраживањима других аутора, модели који се користе за предвиђање инфекције често доводе до ситуација где произвођачи изводе већи број третирања него у случају календарског програма заштите (Epstein and Bassein, 2003; Lybbert et al., 2016). Обично се годишње практикује примена 6-9 третирања, са фокусом на примени фунгицида у раним фазама развоја винове лозе у циљу редуковања примарног инокулума у виду казмотеција и аскоспора и спречавања примарних инфекција. Спречавање примарних инфекција је круцијални сегмент успешне заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, јер уколико се сузбијање примарних инфекција не спроведе на адекватан начин, касније је знатно теже зауставити секундарне инфекције (Emmet et al., 1997; Caffi et al., 2013).

Са заштитом се у већини подручја најчешће креће од фенофазе 4-6 формираних листова (2-4 недеље након пуцања пупољака) па до затварања грозда са основним циљем заштите бобица, у временском интервалу од 10 до 14 дана, водећи рачуна о метеоролошким условима који могу довести до примарних инфекција (Emmet et al., 1997; Hoffmann et al., 2012). Од протективних фунгицида, неизоставан део свих програма заштите је сумпор, који се више од 150 година (од 50-их година 19. века) успешно користи у сузбијању *E. necator*. Осим сумпора, протективним својствима одликује се и мептил-динокап, који се обично позиционира у ранијим фенофазама заштите лозе. Употреба сумпора у заштити винове лозе од проузроковача пепелнице и данас се редовно практикује, с обзиром на то да сумпор испољава добру ефикасност и припада групи тзв. „*multi-site*“ фунгицида, код којих нема ризика од развоја резистентности. Међутим, његова примена има и извесних ограничења, како у погледу фитотоксичних ефеката који се могу испољити при високим температурама (> 30 °C), тако и у погледу његове изузетно слабе ефикасности при нижим температурама (< 16 °C), али и неугодног мириса који оставља на гроздовима од којих се касније прави

вино (Gadoury et al., 1994; Warres, 2021). Додатно, контактни, односно неспецифични (*multi-site*) фунгициди се услед јачих падавина лакше спирају са површине биљних органа, а уколико се то догоди у најкритичнијим фазама, њихова ефикасност се драстично смањује. Управо из претходно наведених разлога, у програмима заштите винове лозе предност се даје специфичним фунгицидима, тј. тзв. „*single-site*“ фунгицидима, који чине основу заштите винове лозе од проузроковача пепелнице. Најчешће су то фунгициди из следећих група: DMI фунгициди (миклобутанил, тебуконазол, дифеноконазол, пенконазол), аминиморфолини (спироксамин), QoI фунгициди (кресоксим-метил, трифлуксистробин, пиракlostробин), SDHI фунгициди (флуксапироксад, флуопирам, боскалид), азанафталени (квиноксифен и проквиназид) и арил-фенил кетони (метрафенон, пириофенон) (Colcol, 2008; Gadoury et al., 2012; Moyer, 2014; Kunova et al., 2016; Warres, 2021). Essling et al. (2021) наводе да се у програмима заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, у Аустралији, највише користе DMI фунгициди (најмање 3 пута годишње у просеку), затим следе QoI фунгициди, азанафталени и морфолини, док се најмање употребљавају арил-фенил кетони и фенил-ацетамиди (цифлуфенамид).

2.5.5 Модели (програми) заштите винове лозе од проузроковача пепелнице

Заштита винове лозе од проузроковача пепелнице усмерена је пре свега на заштиту бобица, односно гроздова, јер је свакако основни циљ у производњи винове лозе добијање здравих и квалитетних гроздова. Правилно позиционирање фунгицида у програмима заштите винове лозе и њихова рационална примена је од круцијалног значаја, па је из тог разлога неопходно добро познавати, како епидемиологију патогена, тако и биологију винове лозе. Најосетљивије фенофазе винове лозе према проузроковачу пепелнице су почетак цветања, прецветавање, заметање па све док бобице не достигну 2 mm у пречнику (Gadoury et al., 2003). Kast and Bleyer (2011) су у периоду од 1999. до 2010. године у Немачкој испитивали ефекте различитих фунгицида у сузбијању *E. necator* кроз два режима заштите. Први режим је укључивао укупно 3 третирања током најосетљивих фенофаза – од диференцијације цвасти до бобица величине зрна пшенице (ВВСН 55-73), док је у другом режиму изведено укупно 7 третирања од фенофазе развијених 8-9 листова до затварања грозда (ВВСН 18-79). У огледу су током година коришћени различити фунгициди и њихове комбинације: пиракlostробин, трифлуксистробин, кресоксим-метил, кресоксим-метил + боскалид, миклобутанил, проквиназид, пенконазол, квиноксифен + миклобутанил, квиноксифен + фенаримол, метрафенон и сумпор. У првом режиму, у зависности од године испитивања, коришћени су у блоку од три третирања следећи фунгициди: трифлуксистробин, квиноксифен + миклобутанил, пенконазол, кресоксим-метил + боскалид, проквиназид, пиракlostробин, метрафенон и сумпор. Интензитет обољења у контроли кретао се од 9 до 68%, а ефикасност првог режима од 78,6 до 100%, док се код другог режима кретала од 88,9 до 100%. Највећа ефикасност у првом режиму постигнута је када су у блоку од три третирања примењени трифлуксистробин (три пута узастопно), проквиназид-пиракlostробин-проквиназид и метрафенон-пиракlostробин-метрафенон (95,5-100%), док је најмања постигнута када су у блоку три пута узастопно примењени кресоксим-метил и комбинација квиноксифен + миклобутанил (78,6-90,5%). Ова испитивања су показала да статистичке разлике између два режима готово и да не постоје, и да би се применом најефикаснијих фунгицида у критичним фазама обезбедила успешна заштита винове лозе од *E. necator*.

Deliere et al. (2010) су испитивали ефекте квиноксифена, тебуконазола и трифлуксистеробина у раним фазама инфекције *E. necator*. Огледи су изведени у лабораторијским и пољским условима, с тим да су огледи у пољу изведени уз вештачку инокулацију централних младара на чокотима. Фунгициди су примењени 28 дана након инокулације, а изведено је укупно 3 третирања у размацама од 14 дана. Интензитет обољења у контролним варијантама током трогодишњег огледа кретао се од 20 до 60 %. Резултати огледа су показали да је највећа ефикасност установљена применом тебуконазола и трифлуксистеробина (интензитет обољења < 5%), док је ефикасност квиноксифена била нешто нижа (интензитет обољења 5-20%). Закључено је да се на основу резултата огледа може креирати стратегија заштите винове лозе применом ове три активне супстанце и то на следећи начин: због куративних и протективних својстава трифлуксистеробина и тебуконазола, препоручено је да се они примењују у почетним фазама инфекције (куративна примена), док се протективно деловање квиноксифена може искористити за каснија третирања, након тебуконазола и трифлуксистеробина како би се заштитили листови и избегло формирање колоније патогена на листовима.

Поједини аутори наводе да успешна стратегија сузбијања *E. necator* подразумева смањење инфекционог потенцијала, тј. презимљујућег инокулума патогена. Ово практично значи да је са заштитом неопходно кренути одмах након завршене бербе, јер овом интервенцијом се може редуковати и до 90% презимљујућих казмотеција и одложити појава инфекције у винограду за неколико недеља (**Gadoury et al., 1994**). **Caffi et al. (2013)** су установили да се применом мептил-динокапа или комбинације боскалид + крезоксим-метил након бербе смањује инфекциони потенцијал за идућу годину, и одлаже примарна инфекција у просеку за 14-21 дан. С друге стране, примена спироксамина, бупиримата и минералних уља након бербе нема готово никакав утицај на смањење презимљујућег инокулума. Додатно, апликација препарата AQ10 (на бази *A. quisqualis*) непосредно пред бербу и након бербе утиче на смањену појаву болести у наредној години за 50%. Исти аутори наводе, да би се апликацијом препарата AQ10 непосредно пре и након бербе и применом сумпора на самом почетку вегетације (појава првих листића), смањила потреба за применом синтетичких фунгицида у идућој години, јер би њих, у том случају, требало позиционирати у најосетљивијим фазама развоја винове лозе, односно од фенофазе диференцијације цвасти до фенофазе када су бобице величине зрна грашка. Слични резултати добијени су и у истраживању које су **Hoffmann et al. (2012)** спровели у Мађарској са циљем утврђивања индиректног ефекта различитих фунгицида на презимљујуће казмотеције *E. necator*. Огледи су спроведени током 2005. и 2006. године, а у истраживању су коришћени следећи фунгициди: метрафенон, проквиназид, боскалид, пиракlostробин, крезоксим-метил, азоксистробин, флуквинконазол, трифлуксистеробин и комбинација тебуконазол + триадименол + спироксамин. Током 2005. године изведено је укупно 6 третирања (ВВСН 61-81), односно 5 третирања током 2006. године (ВВСН 61-81). У контролној варијанти број казмотеција се кретао од 115,2 до 539,4 на листу на 10 см², односно од до 342 до 2668,33 на површини чокота на 10 грама узорка. Највећа ефикасност у редуцији броја казмотеција током 2005. на листовима забележена је применом боскалида (0,04), пиракlostробина (0,3), флуквинконазола (1,58) и метрафенона (5,1), док је најмања ефикасност установљена код азоксистробина (76,7) и проквиназида (67,8). Највећа ефикасност у редуцији броја казмотеција на чокотима установљена је у варијантама са флуквинконазолом (65), пиракlostробиним (89,33), боскалидом (104), метрафеноном (120,33) и проквиназидом (109,67), а најмања код азоксистробина (383,33). Током 2006.

године, када је број образованих казмотеција био знатно већи у контролној варијанти највећа ефикасност у редукцији броја казмотеција на листовима остварена је применом боскалида (0,1) и флуквинконазола (0,4), а најмања применом азоксистробина и трифлуксистробина (539,4 и 526,7). На чокотима, највећу ефикасност су испољили такође боскарид и флуквинконазол (28, односно 46,33 утврђених казмотеција), а најмању трифлуксистробин и азоксистробин (3120,67 и 2668,33 утврђених казмотеција). Резултати овог истраживања су показали да се боскарид и флуквинконазол могу интегрисати у програме заштите винове лозе од проузроковача пепелнице. Њиховом применом након бербе може се смањити инфекциони потенцијал за идућу вегетациону сезону.

Миладиновић и сар. (2007) вршили су испитивања ефикасности препарата на бази динитро-орто-крезол-а (DNOC) и бакар-оксихлорида са циљем смањивања инфекционог потенцијала патогена за идућу вегетациону сезону. Експерименти су спроведени од 2002. до 2004. године, и резултати указују да се применом препарата на бази DNOC-а постиже значајно смањење интензитета обољења на гроздовима и листовима (инт. обољења 28,3-44,7%), чак и уколико се током вегетационе сезоне не врши сузбијање пепелнице (инт. обољења у контроли 62,2-97,4%), док препарати на бази бакар-оксихлорида готово да немају утицај на редукцију презимљујућег инокулума (инт. обољења 47,9-95,0%). У варијанти која је представљала модел заштите у којој је изведено укупно 7 третирања (ВВСН 12-81) која су укључивала примену пенконазола (два третирања), крезоксим-метила (три третирања) и сумпора (4 третирања од којих два самостално и два у комбинацији са пенконазолом) ефикасност је била у опсегу од 97,4 до 100%. У моделу заштите где је поред ових 7 третирања укључено и зимско третирање препаратима на бази DNOC-а ефикасност је била максимална (100%).

Бројна истраживања спроведена током последњих 20 година, нарочито на подручју Италије, указују на ефикасност различитих модела (програма) заштите винове лозе од проузроковача пепелнице. У истраживању **Sancassani and Rho (2002)** у периоду од 1999. до 2001. године испитивани су ефекти различитих програма заштите у циљу сузбијања проузроковача пепелнице винове лозе. Током прве године истраживања, испитана су три програма заштите у којима је препарат на бази сумпора примењен у прва три и последња три третирања. Програми су се разликовали у односу на препарате који су примењени између третирања са сумпором: први програм (4 третирања препаратом на бази трифлуксистробина); други програм (4 третирања препаратом на бази комбинације триадименол + тебуконазол); трећи програм (4 третирања препаратом на бази пенконазола). Интензитет обољења у контроли на гроздовима кретао се од 13,1 до 46,7% (45,5 до 78,5 % заражених гроздова), а у сва три програма испољена је висока ефикасност у сузбијању *E. necator* (99,5-99,9%). Током 2000. године интензитет обољења у контроли није био релевантан за оцену. У истраживању током 2001. године испитивана је ефикасност још три програма заштите, са одређеним модификацијама. Препарат на бази сумпора је у сва три програма био позициониран у почетна три и крајња три третирања, а препарат на бази комбинације тебуконазол + триадименол примењен је у сва три програма два пута, након почетна три третирања препаратом на бази сумпора. У први програм (након третирања комбинацијом тебуконазол + триадименол) интегрисан је препарат на бази трифлуксистробина (3 третирања у блоку), у други програм препарат на бази квиноксифена (3 третирања у блоку) и у трећи препарат на бази азоксистробина (3 третирања у блоку). Интензитет обољења у контроли кретао се од 11,7 до 12,5 % (49-56,8 % заражених гроздова), а у сва три програма испољена је висока ефикасност (98,6-99,4).

Sozzani et al. (2008) су испитивали три програма заштите са различитим фунгицидима на два локалитета током 2007. године. Укупно је обављено 5 третирања и то од фенофазе почетак цветања (ВВСН 61) до фенофазе затварање грозда (ВВСН 79). Распоред третмана у програмима био је следећи - први програм: метрафенон (1) – кресоксим метил + боскалид (2 и 3) – метрафенон (4 и 5) ; други програм: метрафенон (1) – пиракlostробин (2 и 3) – боскалид (4) – метрафенон (5); трећи програм: спироksamин (1 и 2) – трифлoксистробин (3, 4 и 5). Интензитет обољења у контроли кретао се од 9,1 до 25,63%. Програми се нису статистички разликовали на првом локалитету, али је на другом локалитету максимална ефикасност постигнута само у првом програму, а нешто нижа је била у другом и трећем програму.

У периоду од 2004. до 2007. године на једном локалитету у Италији, **Egger (2008)** је испитивао ефикасност 9 програма заштите винове лозе у циљу ефикаснијег сузбијања *E. necator*. Сваки програм заштите укључивао је извођење укупно 5 третирања у свим експерименталним годинама (ВВСН 57-ВВСН 79), с тим да је 2004. и 2007. изостављено четврто, а 2006. треће третирање. Распоред фунгицида у програмима био је следећи: први програм – сумпор (1) – боскалид+кресоксим-метил (2 и 3) – сумпор (4 и 5); други програм – сумпор (1) – метрафенон (2) – боскалид + кресоксим-метил (3 и 4) – сумпор (5); трећи програм – сумпор (1) – миклобутанил (2 и 3) – сумпор (4 и 5); четврти програм – сумпор (1) – трифлoксистробин (2) – тебуконазол (3 и 4) – сумпор (5); пети програм – сумпор (1) – миклобутанил (2) – проквиназид (3 и 4) – сумпор (5); шести програм – сумпор (1) – азоксистробин (2) – пенконазол (3 и 4) – сумпор (5); седми програм – сумпор (1) – пиракlostробин (2) – боскалид + кресоксим-метил (3 и 4) – сумпор (5); осми програм – сумпор (1) – квиноксифен (2 и 3) – миклобутанил (4) – сумпор (5); девети програм – спироksamин (1) – тебуконазол (2 и 3) – сумпор (4 и 5). Током експерименталних година, интензитет обољења у контролама се кретао од 14,5 до 64,7% (25,3-77,4% заражених гроздова). Током 2004. године најмања ефикасност (79,2%) установљена је код трећег програма (сумпор-миклобутанил-сумпор), док су остале варијанте испољиле високу ефикасност (97,6-99,7%). И у 2005. години у истом програму забележена је најмања ефикасност (93,9%), док је изузетно висока ефикасност постигнута код другог, петог, шестог, осмог и деветог програма (96,8-100%). Током 2006. године код свих испитиваних програма забележена је висока ефикасност (97,6-99,9%), а иста ситуација се поновила и 2007. године (98,1-100%).

Током 2008. и 2009. године, **D’Arcangelo et al. (2010)** су вршили испитивање 5 различитих модела заштите у циљу утврђивања ефикасности у сузбијању *E. necator*. Током 2008. године изведено је укупно 8 третирања (ВВСН 53-79) а у првом, другом, трећем и четвртном програму сумпор је примењен у првом третирању, а миклобутанил у другом, трећем и последњем третирању. Између ових третирања, дакле у четвртном, петом, шестом и седмом третирању, у зависности од програма примењени су: проквиназид (први програм), квиноксифен (други програм), метрафенон (трећи програм) и комбинација проквиназид + тетраконазол (четврти програм). Пети програм састојао се од следећих фунгицида: мептил-динокап (1) – миклобутанил (2 и 3) – квиноксифен + миклобутанил (4, 5, 6 и 7) – квиноксифен (8). Интензитет обољења у контроли, на гроздовима био је 71,2% (100% заражених гроздова), а на листовима 43,7% (66,5 % заражених листова). У свим варијантама постигнута је висока ефикасност, како на гроздовима (93,9 – 95,8%), тако и на листовима (99,2-99,6%). Током 2009. године изведено је укупно 9 третирања (ВВСН 53-79) са готово истим програмима, с тим да је сумпор примењен у првом и другом третирању, а

миклобутанил у претпоследњем и последњем третирању. Интензитет обољења на гроздовима био је 37,2% (50% заражених гроздова), односно 32,1% на листовима (42,5 % заражених листова). Најмања ефикасност на гроздовима постигнута је у првом и другом програму (94-94,6%), док је осталим програмима била изнад 95%. На листовима је утврђена врло висока ефикасност код свих испитиваних програма (98,8-100%).

D'Ascenzo et al. (2012) у периоду од 2009. до 2011. године испитивали су различите моделе заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, са посебним освртом на интеграцију цифлуфенамида у програме заштите у алтернацији са сумпором. У варијанти где је сумпор примењен у првом, и последња три третирања, а цифлуфенамид и пенконазол између ових третирања, ефикасност је била 87,9 до 90,8% на гроздовима, односно 85,7 до 98% на листовима.

2.5.6. Модели за прогнозу појаве *E. necator* и прецизно одређивање интервала примене фунгицида

У биљној патологији, један модел за прогнозу појаве болести има за крајњи циљ да опонаша реалност, и то тако што у систем инкорпорира реалне варијабле које ће послужити као основа за квантитативно приказивање природних појава. Специфична природа *E. necator* послужила је као темељ за развој различитих модела и система предвиђања појаве овог патогена. Оно што треба узети у обзир јесте и чињеница да винову лозу нападају и други економски врло значајни патогени, па програми заштите који би били базирани искључиво на праћењу биологије *E. necator* оставили би велику празнину у систему заштите винове лозе, отварајући простор за друге патогене и чинећи такав систем нестабилним. Интеграција више система за праћење појаве најзначајнијих патогена у један велики систем је изузетно тешка, па је и сама заштита винове лозе јако комплексна и изазовна. Поседовање знања и разумевање свих инпута специфичних за један патолошки систем предуслов је за развој адекватног и прецизног модела за предвиђање појаве болести и правовремену примену фунгицида (**Moyer, 2011**).

Kast (1997) је развио један од првих модела који се базирао на прикупљању метеоролошких података и података о појави *E. necator* током последњих 50 година у виногорјима Немачке. У овом моделу, датум првог третирања одређује се путем грубог индексирања интензитета обољења из претходне године и средњих вредности најнижих температура у претходне две зиме. На основу ових информација, од момента када наступи фенофаза отворена три листа (ВВСН 13) започиње се са рачунањем датума првог третирања. Други модел, који је по својој природи такође емпиријски, је модел развијен од стране **Carisse et al. (2009b)**. Овај модел у основи се своди на искуствене вештине стручњака заштите биља или произвођача, који треба да изврше правовремени преглед винограда у потрази за првим знаковима болести и то када се остваре повољни услови за примарну инфекцију аскоспорама: > 2,5 mm падавина током најмање четворочасовног периода при температурама од 6 до 24 °C, и уколико се утврди присуство симптома примарне инфекције, неопходно је приступити интензивној заштити винове лозе. **Caffi et al. (2011)** су покушали да развију механистички модел који симулира примарне инфекције аскоспорама и који би на тај начин требало да помогне произвођачима да правовремено изведу хемијске мере заштите. Од момента пуцања пупољака и услова за разношења аскоспора, модел користи метеоролошке податке за: дневно прорачунавање сазревања аскоспора, разношења аскоспора, услова за остваривање инфекције и услова за секундарне инфекције. Предикције модела на основу анализираних података, група аутора је поредила

са реалним стањем у виноградима. тј. са појавом првих симптома у виноградима. Обзиром да пропорција предвиђених инфекционих периода није одговарала појави болести у свим виноградима, сигурност за предикцију је била много већа за неинфекциони него за инфекциони период. Велики број лажно позитивних предикција модела за примарну инфекцију се јавио услед услова за разношење аскоспора који су се остваривали прилично рано, чак и пре развоја лишћа, односно пуцања пупољака. На основу свих података, направљена је једначина која прерачунава вероватноћу да предвиђени период инфекција резултира појавом болести, узимајући у обзир фенофазу винове лозе (као функцију) у време предвиђања. Други механистички модел, који су развили **Legler et al. (2014)**, направљен је да симулира развој казмотеција у виноградима како би правовремена примена биолошких агенаса (*A. quisqualis*) обезбедила редуkcију примарног инокулума тј. казмотеција. Модел стартује са радом у моменту образовања првог аскокарпа у виноградима, а затим на двевном нивоу рачуна пропорцију у жутој, браон и црној фази дозревања казмотеција. Датум иницијализације утврђен је итеративним поступком који минимизира остатке пројектованих у односу на посматране вредности. У односу на предикцију самог модела, у појединим годинама формирање казмотеција у винограду започето је од 2 дана до две недеље раније него што је модел предвидео. Углавном, утврђена је довољна прецизност модела са високом поузданошћу, али са одређеним изузетцима. Наиме, у једној години истраживања када је предвиђена продукција црних казмотеција на лишћу поређена са ситуацијом у виноградима дошло је до несклада у подацима, јер је недостатак плусковитих киша утицао на мање разношење казмотеција у виноградима. Додатно, у другој години испитивања када је број казмотеција (жутих, браон и црних) на листовима у винограду упоређен са моделом, испоставило се да је модел предвидео више казмотеција него што је утврђено прегледом винограда, јер су јаче кише утицале на спирање казмотеција са листова. Закључено је да се прецизност модела може повећати укључивањем података о падавинама које дефинитивно могу утицати на спирање незрелих и зрелих казмотеција са листова винове лозе.

Caffi et al. (2012) су у периоду од 2006. до 2008. године развијали систем за упозорење којим се предвиђа примарна инфекција изазвана аскоспорама у виноградима северне Италије. Систем је развијен за рана третирања, тј. на самом почетку вегетационе сезоне и базира се на следећим параметрима: временској прогнози за кратак период; моделу за симулацију прогнозе појаве инфекције *E.necator* вођену аскоспорама; слања кратких порука са мобилног телефона. У поређењу са редовним конвенционалним програмом заштите који укључује у просеку извођење 5 до 7 третирања годишње (221 евро/ха годишње се утроши за куповину фунгицида), систем за упозорење може смањити употребу фунгицида за 36% (уштеда 56 евро/ха годишње). У Чилеу, у периоду од 2010. до 2013. године вршено је испитивање ефикасности и економичности система за подршку у одлучивању за правовремену примену фунгицида у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе (**Valdez-Gomes et al., 2017**). Систем за подршку утицао је на смањење броја третирања у односу на конвенционални програм заштите и базирао се на примени кључна 2-3 третирања током најосетљивих фенофаза винове лозе и то фунгицидима који имају изражена системична својства (азоксистробин+дифеноконазол, тебуконазол + трифлуксистробин и тебуконазол самостално). Интензитет обољења у контролама кретао се од 10 до 40%, док је у третманима био < 3%. Додатно, годишња заштита од *E. necator* у систему подршке била је између 322 и 415 долара по хектару, што је у просеку за 40 до 60% мање у односу на традиционалну стратегију заштите која је устаљена код произвођача.

Модел који су развили **Thiessen et al. (2017)** базира се на утврђивању присуства инокулума *E. necator* у ваздуху применом савремених молекуларних метода (real-time PCR). Помоћу посебних колектора који су постављени у винограду, узимају се узорци и доносе у лабораторију како би се утврдила виталност и количина инокулума (конидија и аскоспора). На основу присуства инокулума у винограду врше се препоруке за примену фунгицида. Првобитно је утврђено да пролонгирање периода за примену фунгицида све до моментра детекције инокулума у винограду смањује број третирања за 2,5 у просеку (**Thiessen et al., 2016; Thiessen, 2016**). У поређењу са стандардним програмом заштите, доказано је да је применом модела током 2013. године у просеку смањен број прскања за 2,3, односно током 2014. године за 1,6 и да у поређењу ефикасности конвенционалног модела заштите и испитиваног модела нису установљене статистички значајне разлике.

2.6. Својства фунгицида од значаја за сузбијање *E. necator*

За сузбијање *E. necator* у савременој заштити винове лозе најзначајније место заузимају фунгициди из следећих група: DMI фунгициди, QoI фунгициди, SDHI фунгициди, азанафталени, арил-фенил-кетони, амини-морфолини, фенил-ацетамиди. Осим њих значајну позицију заузима и сумпор као најтипичнији представник из групе протективних фунгицида са неспецифичним деловањем који се користи у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе.

2.6.1 Елементарни сумпор

Ово је најстарија позната супстанца са фунгицидним деловањем, чија пестицидна својства су учили стари Грци и то 1000 година пре нове ере. У заштити биља Forsyth (1802) је први дао препоруку за његову примену у сузбијању биљних болести (**Emmett et al., 2003**). Сумпор је специфичан по томе што се као фунгицид једино он примењује у елементарном облику. То је прашкаста супстанца жуте боје. На собној температури (20 °C) је слабо испарљив (напон паре $9,8 \times 10^{-2}$), а знатно боље испарава при вишим температурама (н.п. 0,527 mPa; 30 °C). Ефикасност готових формулација сумпора у значајној мери зависи и од финоће његових честица, па је препоручљиво да у готовој формулацији пречник честица не би требало да буде већи од 50 μm . Може бити формулисан у виду прашива, квашљивих прашкова, микронизованих честица и течних формулација. У пракси се најчешће користи квашљиви сумпор, који мешањем са водом даје хомогену суспензију и примењује се у течном стању (**Emmett et al., 2003; Стевић, 2020**).

Сумпор припада групи тзв. „*multi-site*“ фунгицида који делују на бројне ензиме гљива. То су фунгициди са неспецифичним и превентивним деловањем, што практично значи да су ефикасни искључиво уколико се примене пре остваривања инфекције. Управо је сумпор фунгицид који одступа од овог правила, јер иако је изразити несистемик, осим превентивног, испољава и извесно куративно деловање. Куративни ефекат се објашњава чињеницом да је његова примена ограничена на сузбијање гљива које припадају фамилији *Erysiphaceae* (проузроковачи пепелнице) и које формирају епифитну мицелију (на површини биљних органа). У практичним условима сумпор се најчешће користи за сузбијање: *E. necator*, *Podosphaera leucotricha*, *Sphaerotheca pannosa* var. *persicae*, *Erysiphe cichoracearum* и др. Поред фунгицидиног деловања, испољава и извесно акарицидно деловање на паучинасте и ериофидне гриње (**Стевић, 2020**).

Постоје различите теорије о механизму деловања сумпора. Највероватније је да сумпор делује помоћу својих оксида – сумпор-диоксида и сумпор-триоксида. Оксиди сумпора су јака оксидациона средства која нарушавају редокс-системе у ћелијама гљиве. Постоји и теорија о tzv. „директном деловању“ према којој се сумпор понаша као акцептор водоника у метаболичким системима, реметећи тако процесе хидрогенације и дехидрогенације у ћелијама гљива, а утврђено је и да сумпор има висок афинитет према води, те конкурише кисеонику у процесу електронског транспорта. Најзанимљивија теорија о механизму деловања сумпора базира се на тврдњи да се честице колоидног сумпора понашају као микро сочива и да попут лупе усмеравају сунчеву светлост, повећавајући температуру у самом фокусу, што за последицу има термичку деструкцију хифа гљива које формирају епифитну мицелију. Деловање сумпора у великој мери зависи од температуре. Установљено је да при температурама нижим од 16 °C долази до драстичног пада у ефикасности сумпора, док је оптимални температурни интервал за његову примену између 18 и 28 °C (**Стевић, 2020**). Утврђено је да се под дејством метеоролошких фактора (нарочито падавина) резидуе сумпора са површине биљних органа могу смањити у року од 3 дана за готово 58% у односу на почетно стање (**Halleen and Holz, 2001**).

Примена сумпора може довести и до фитотоксичних ефеката, и то уколико се третирања изводе при температурама вишим од 32 °C, када се могу јавити оштећења у виду ожеготина, која посебно могу бити значајна на плодовима. Међутим, **Magarey et al. (2003)** су утврдили да се фитотоксични ефекти на виновој лози јављају тек при температурама изнад 40 °C. На виновој лози симптоми фитотоксичности сумпора се јављају на гроздовима и то на бобицама које су више осунчане (слика 3), али се симптоми могу испољити и на листовима. Додатно, примена сумпора није препоручљива ни током фенофазе цветања, јер зрна сумпора уколико падну на жиг тучка могу инхибирати клијање поленових зрна, што се неповољно одражава на оплодњу и може резултирати смањењем броја формираних плодова (**Стевић, 2020**). Утврђено је и да се величина честица сумпора може довести у везу са појавом фитотоксичних ефеката, па тако, честице мање од 1 µm могу директно продрети кроз стоме, и тада долази до оксидације сумпора и ствара се SO₂, који под утицајем влаге у стомама прелази у SO₃. Када SO₃ дође у контакт са водом у ћелији, ствара се сумпорна киселина (H₂SO₄) која је фитотоксична (**Emmett et al., 2003**).



Слика 3. Симптоми ожеготина на гроздовима и листовима након примене сумпора (ориг.)

Према FRAC-у, ризик од развоја резистентности код сумпора практично и да не постоји, те спровођење мера антирезистентне стратегије није неопходно. С озбиром на то да је реч о протективном фунгициду, сумпор се мора применити пре остваривања инфекције, а обично се третирања изводе у интервалима од 7 до 10 дана (**Миладиновић и сар., 2008**). Истраживања о ефикасности сумпора у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе базирана су углавном на позиционирање сумпора у моделима заштите, претежно у комбинацији са системичним фунгицидима, али резултати појединих аутора указују и на његове добре ефекте чак и у самосталној примени (**Brunelli et al., 1992; Prandi et al., 2002; Emmett et al., 2003; Wicks et al., 2003; Braccini et al., 2010; Morando et al., 2016; D’Arcangelo and Puccioni, 2018; Deandrea et al., 2020**). У програмима заштите представља идеалног партнера у антирезистентној стратегији (у комбинацији са системичним фунгицидима), али може се позиционирати и примењивати самостално обично у почетним фенофазама или фазама пред бербу винове лозе (**Sancassani and Rho, 2002; Egger, 2008; D’Arcangelo et al., 2010; Kast and Bleyer, 2011; D’Ascenzo et al., 2012; Guario et al., 2014**).

2.6.2 Динитрофенил-кротонати

Припадају групи тзв. анкаплера оксидативне фосфорилације (C5), односно интерферирају у процесима ћелијског дисања. Осим динитрофенил-кротоната у оквиру C5 групе налазе се и 2,6-динитро-анилини. Једини представник динитрофенил-кротоната, који се данас користи у заштити биља је мептил-динокап.

Мептил-динокап

У оквиру ове групе фунгицида прво синтетисано једињење било је динокап, које је данас замењено његовим аналогом мептил-динокапом. Супстанца је развијана од стране DowAgroSciences GmbH и за разлику од динокапа, одликује се знатно повољнијим токсиколошким профилем (**Bacci et al., 2008**). У облику је жућкасто-наранцасте течности, слабо растворљиве у води, а одлично се раствара у готово свим органским растварачима. На тржишту Србије, мептил-динокап је формулисан у виду концентрата за емулзију и налази се у препарату Karathane Gold 350 EC (350 g/l a.c.). Ово је протективни, куративни и ерадикативни фунгицид, који се не транслоцира у биљкама (несистемик). Након примене, снажно се везује за површину листа, што га чини прилично отпорним на спирање кишом. Спектар деловања му је ограничен на патогене из фамилије *Erysiphaceae*. У пракси, најчешће се користи са сузбијање *E. necator* и *P. leucotricha*. Поседује и споредно контактано деловање на гриње (**Стевић, 2020**).

Према литературним подацима, мептил-динокап може испољавати фунгицидну активност на све развојне стадијуме проузроковача пепелница, а најчешће се користи за спречавање примарних инфекција - спречава образовање и сазревање казмотеција и инхибира разношење аскоспора. Неки аутори наводе да се може користити и као одлично санитарно средство током јесени (након бербе винове лозе), када почиње образовање и сазревање казмотеција, те његова примена има за циљ да у овом периоду редукује инокулум за идућу вегетациону сезону (**Caffi et al., 2013**). Може се користити у ширем опсегу температура, али се углавном позиционира у ранијим фенофазама (нарочито код винове лозе), јер остварује значајно боље деловање при нижим температурама у односу на сумпор.

Мептил-динокап припада групи фунгицида тзв. анкаплера оксидативне фосфорилације (C5; FRAC). Ови фунгициди испољавају своје деловање преко биоенергетских трансдукционих мембрана, непропусних за протоне у процесу оксидативне фосфорилације. Обзиром да ови фунгициди немају специфично место везивања у ћелији гљива, предуслов за њихово биолошко дејство, јесте да се лако метаболишу у митохондријама. Механизам деловања мептил-динокапа заснива се на инхибицији процеса оксидативне фосфорилације, што директно утиче на продукцију енергије код гљива. Примарно место деловања је у митохондријама, када долази до прекида процеса стварања енергије и електхемијског дисбаланса преко декуплујућег ефекта на оксидативну фосфорилацију, тј. онемогућава се коришћење ослобођене енергије за синтезу АТП-а. Мептил-динокап интерферира и у процесима протонације и депротонације амино групе. Примењује се самостално или у комбинацијама са другим фунгицидима (**Bacci et al., 2008; Стевић, 2020**). У програмима заштите винове лозе од проузроковача пепелнице обично се позиционира у ранијим фенофазама (до цветања) или нешто каснијим фенофазама (почетак затварања грозда), и према доступним литературним подацима испољава добру ефикасност у сузбијању *E. necator* (**Bertocchi et al., 2008; Sozzani et al., 2008; Dongiovanni et al., 2010, 2016; Guario et al., 2014; Viglione et al., 2014**).

2.6.3 QoI фунгициди

Једињења која припадају овој групи фунгицида су синтетисана по узору на супстанце природног порекла, која су изолована из две врсте гљива – *Strobilurus tenacellus* и *Oudemansiella mucida*. Ова група фунгицида која је још позната под називом стробилурини, добила је име баш по роду *Strobilurus*. Супстанце природног порекла које су се одликовале

израженом фотодеградибилношћу, касније су оптимизоване и створени су фотостабилни аналози. Ова група фунгицида подељена је у неколико подгрупа: метоксиакрилати, метоксикарбамати и оксимино ацетати, док су једињења из групе оксазолидиндиона и имидазолинона слична стробилуринима по механизму па су сврстана у групу QoI фунгицида (енг. *Quinone outside Inhibitors*). Прва једињења из ове групе која су уведена у комерцијалну употребу су азоксистробин и крезоксим-метил (Стевић, 2020).

Ови фунгициди делују тако што инхибирају митохондријалну респирацију, везујући се за спољашњи квинол оксидациони центар (Qo), тј. цитохром *bc₁* енизимски комплекс (комплекс III). Између цитохрома *b* и цитохрома *c₁* долази до блокаде транспорта електрона и на тај начин престаје оксидација НАДХ и синтеза АТП-а, што резултира дефицитом енергије у ћелијама гљива и прекида се процес респирације. Стробилурини изузетно добро инхибирају процес клијања спора код гљива, а с обзиром на то да ремете синтезу енергије, процеси који захтевају максимални утрошак енергије код патогена, су и највише погођени. Иако поједина једињења из ове групе испољавају куративни и извесни ерадикативни ефекат, препорука је да се примењују превентивно или у што ранијој фази патогенезе, како би се испољио максимални фунгицидни потенцијал. Осим заштите биљака од патогена, примена стробилурина има и друге бенефите, па тако, њиховом применом биљке добијају свежу зелену боју, а овај феномен је познат као тзв. „green“ ефекат. Према класификацији FRAC-а, QoI фунгициди спадају у групу са највећим ризиком од развоја резистентности, па је неопходно стриктно се придржавати мера антирезистентне стратегије (Bartlett et al., 2002; Balba, 2007; Стевић, 2020).

Пиракlostробин

Фунгицид уведен у примену 2000. године, одликује га слаба растворљивост у води, низак напон паре (не делује парама). Према класификацији FRAC-а припада групи метоксикарбамата. Испољава локал-системична својства, креће се трансламинарно (Стевић, 2020). Има широк спектар деловања, ефикаснији је у сузбијању правих гљива, али се у спектру налазе и поједине псеудогљиве. У заштити винове лозе може се користити за сузбијање *E. necator* и *P. viticola*, док испољава нешто слабију ефикасност у сузбијању *B. cinerea*. У пракси се примењује самостално или у комбинацији са другим фунгицидима попут боскалида, метирама, флуксапирироксада, мефентрифлуконазола и др. У програмима заштите винове лозе од проузроковача пепелнице пиракlostробин се користи најчешће у комбинацији са другим фунгицидима, али може и самостално (Manaresi and Coatti, 2002; Scannavini et al., 2006; Egger, 2008; Sozzani et al., 2008; Dongiovanni et al., 2010, 2016; Kast and Bleyer, 2011).

Крезоксим-метил

У примену је уведен 1998. године. Слабо је растворљив у води, ниске испарљивости. Одликује га изражена липофилност, поседује висок афинитет за кутикуларне воскове, снажно се везује за површину листа и тешко спира кишом. Према класификацији FRAC-а припада групи оксимино-ацетата. Одликује се изузетно повољним токсиколошким профилем. На тржишту наше земље може се наћи у препаратима у облику чврстих (WG) и течних формулација (SC). Након депоновања, релативно брзо се усваја у биљно ткиво и даље креће трансламинарно. Нарочито добро сузбија проузроковаче пепелница, као што су:

E. necator, *P. leucotricha*, *Sphaerotheca fuliginea*, *Erysiphe betae* и др. (Politi et al., 1996; Стевић, 2020). У заштити винове лозе од проузроковача пепелнице користи се самостално или у комбинацији са другим фунгицидима, најчешће боскалидом (Bisiach et al. 1996; Capriotti et al., 2006; Sozzani et al., 2008; Egger, 2008; Dongiovanni et al., 2010; Kast and Bleyer, 2011; D'Ascenzo et al., 2012).

Трифлуксистробин

Уведен је у примену 1999. године, у води је практично нерастворљив, слабо испарљив, са изузетно повољним токсиколошким профилем. Као и крезоксим-метил и ово једињење припада групи оксимино-ацетата. Трифлуксистробин се на тржишту може наћи у формулацијама попут вододисперзибилних гранула, концентрованих суспензија и концентрата за емулзију. Делује протективно, куративно и у извесном степену ерадикативно. Поседује изражену отпорност на спирање кишом због тога што га одликује висок афинитет за површину биљног ткива и воштани слојеви га јако добро апсорбују. На површини биљног ткива може да се редистрибуира, у гасној фази, у оближње, нетретиране делове. Брзо пенетрира у биљно ткиво, где се даље креће трансламинарно, са јако ограниченим васкуларним транспортом, те се у литератури означава и као мезосистемик. Инхибира клијање спора и пораст мицелије, а испољава и антиспорултаново деловање. Користи се за сузбијање бројних гљива из различитих класа (Ascomycetes, Deuteromycetes, Basidiomycetes и Oomycetes), а нарочито добро сузбија проузроковаче пепелница (*E. necator*, *P. leucotricha*, *B. graminis* и др.), проузроковаче рђа (*Puccinia spp.*), лисних пегавости (*Septoria tritici*), проузроковаче трулежи (*Monilinia spp.*, *Penicillium spp.*, *Gleosporium spp.* и др.) (Liguori et al., 2000; Deliere et al., 2010; Стевић, 2020). Трифлуксистробин се у заштити винове лозе од проузроковача пепелнице примењује или самостално или, чешће, у комбинацијама са другим фунгицидима. У Италији је, уз крезоксим-метил, најчешће коришћено једињење из групе QoI фунгицида у сузбијању *E. necator* (Liguori et al., 2000; Sancassani and Rho, 2002; Prandi et al., 2002; Sozzani et al., 2008; Egger, 2008; Dongiovanni et al., 2010, 2016, 2018; Rubboli et al., 2014; Valente et al., 2018).

2.6.4 SDHI фунгициди

Инхибитори сукцинат дехидрогеназе (енг. *Succinate Dehydrogenase Inhibitors*) су група једињења која доживљава највећи степен развоја у погледу синтезе нових активних супстанци и њиховог увођења у примену у протеклој деценији. Уведени су у примену још 60-тих година прошлог века (карбоксин као први фунгицид из поменуте групе), али је та прва генерација ових фунгицида имала јако узак спектар деловања и врло ограничену примену (обично за третирање семена). Континуирана истраживања довела су до синтезе нових активних супстанци са знатно ширим спектром деловања и побољшаним карактеристикама, те је тако у примену 2003. године уведен боскалид, са којим је почео развој друге (нове) генерације SDHI фунгицида. Према FRAC класификацији разврстани су у неколико хемијских група: пиридинил-етил-бензамиди, пиразол-4-карбоксамиди, пиридин-карбоксамиди и фенил-оксо-етилтиофен амиди. О значају ове групе у савременој заштити биља, сведоче и подаци из Немачке и Велике Британије, где је забележен пораст употребе ових фунгицида од 2012. године за 25-60% у заштити стрних жита (Scalliet et al., 2010, 2012; Sierotzki and Scalliet, 2013, Стевић, 2020).

Међу једињењима из ове групе постоје значајне структурне разлике, али им је заједничка амидна веза. Класификација је базирана на природи супституисаних петочланих или шесточланих прстенова. „Језгро“ молекула је од највећег значаја за везивање и овај део молекула улази у активно место сукцинат дехидрогеназе. Поред језгра, важни сегменти у једном молекула су везујућа компонента, која може носити супституент – фенил групу (од значаја за активност), и хидрофобни део који има утицај на биолошки спектар и активност једињења (**Sierotzki and Scalliet, 2013**).

Механизам деловања се генерално заснива на инхибицији ензима сукцинат дехидрогеназе. То је ензим који је у спреси са респираторним и Кребсовим циклусом и сачињавају га две подјединице са унутрашње стране мембране, окренуте ка матриксу митохондрије (SDHA-флавопротеин и SDHB-гвожђе-сумпорни протеин) и две подјединице (SDHC и SDHD) које представљају интегрални део ћелијске мембране (**Hagerhall 1997; Ackrell 2000; Avenot et al., 2009**). Ензим сукцинат дехидрогеназа врши трансфер електрона директно на убиквинон, посредством електрон транспортног ланца, и има есенцијалну улогу у респираторном ланцу (комплекс II). Када се инхибира овај ензим, прекида се респирација у митохондријама (омета циклус трикарбоксилних киселина) и долази до смрти ћелије (**Avenot and Michailides, 2010**). На нивоу молекула инхибирају редукцију убиквинона чиме се прекида транспорт електрона са [3Fe-4S] кластера SDHB подјединице на убиквинон, и управо највећи број савремених SDHI фунгицида своје деловање остварује на овај начин (**Avenot and Michailides, 2010, Veloukas et al., 2013**). Језгро молекула се најчешће везује за SDHC и SDHB подјединицу, везујућа компонента је такође у спреси са овим подјединицама, а хидрофобни остатак је у интеракцији са SDHC и SDHD подјединицама. Са аспекта развоја резистентности, према FRAC-у, сврстани су у групу са високим ризиком, па је неопходно примењивати их у складу са принципима антирезистентне стратегије (**Sierotzki and Scalliet, 2013, Стевић, 2020**).

Боскалид

У комерцијалну употребу, боскалид је уведен 2003. године. Слабе је растворљивости у води, добро се раствара у органским растварачима, веома ниске испарљивости, тако да не делује парама, а одликује га и јако повољан токсиколошки профил. Припада групи пиридин-карбоксамида (C2, FRAC 7). Означен је као једно од водећих једињења из групе SDHI фунгицида, са широким спектром деловања, нарочито на фитопатогене гљиве из класе Ascomycetes и Deuteromycetes (**Стевић, 2020**). Са открићем и појавом боскалида на тржишту креирана је стабилна основа за развој фунгицида из ове групе, па је у последњих неколико година синтетисано и уведено у примену доста нових перспективних активних супстанци (**Avenot et al., 2009**). На тржишту наше земље заступљен је у различитим препаратима, самостално или у комбинацији са пираклостробином или крезоксим-метилом.

Биолошку активност испољава у свим стадијумима развића патогена, а деловање је преваходно усмерено на инхибицију клијања спора, издуживања кличине цеви и пораст мицелије (**Veloukas et al., 2013**). Боскалид је трансламинарни фунгицид, са извесним системичним својствима и акропеталном транслокацијом (**Capriotti et al., 2004**). Испољава протективно и куративно деловање. Користи се за субзијање бројних фитопатогених гљива као што су: *E. necator*, *B. cinerea*, *A. solani*, *Dydimella applanata*, *Dydimella bryoniae*, *Monilinia spp.*, *Podosphaera xanthii*, *Sclerotinia sclerotiorum* и др. (**Стевић, 2020**). У заштити винове лозе користи се за сузбијање *E. necator* и *B. cinerea*. Углавном, за сузбијање

проузроковача пепелнице винове лозе примењује се у комбинацији са другим фунгицидима (стробилуринима и триазолима), ређе самостално (Capriotti et al., 2004; Capriotti et al., 2006; Scannavini et al., 2006; Sozzani et al., 2008; Dongiovanni et al., 2010, 2016, 2018; D'Ascenzo et al., 2012; Valente et al., 2018).

Флуопирам

Новије једињење, синтетисано од стране Bayer Crop Science, које је у комерцијалну употребу уведено почетком претходне деценије. Слабо се раствара у води, знатно боље у органским растварачима, поседује низак напон паре, средњи подеони коефицијент и изузетно повољан токсиколошки профил. Припада групи пиридинил-етил-бензамида (C2, FRAC). Делује протективно и куративно, а након примене већи део супстанце се везује за лисну површину док се мањи део усваја и транслоцира у биљкама на краћа растојања. Флуопирам испољава трансламинарну активност, а кретање ксилемом (акропетално) је ограничено (Lazzari et al., 2010; Стевић, 2020). Инхибира клијање спора, издуживање кличине цеви и пораст мицелије (Veloukas and Karaoglanidis, 2012). Користи се за сузбијање економски врло значајних патогена као што су: *V. inaequalis*, *P. leucotricha*, *E. necator*, *P. xanthi*, *Monilinia spp.*, *Alternaria spp.*, *B. cinerea*, *D. applanata* и др (Стевић, 2020). На тржишту се у готовим формулацијама налази углавном у комбинацији са другим фунгицидима, попут тебуконазола (Luna Experience), спироксамина (Luna Max), трифлуксистробина (Luna Sensation) и фосетил-алуминијума (Luna Care). У заштити винове лозе најчешће се користи у комбинацији са тебуконазолом или спироксамином (Valente et al., 2018).

Флуксапироксад

Фунгицид синтетисан и патентиран од стране компаније BASF, у комерцијалној употреби од 2013. године. Карактерише га слаба растворљивост у води, добра растворљивост у органским растварачима, средњи подеони коефицијент, слаба испарљивост и повољан токсиколошки профил (Стевић, 2020). Припада хемијској групи пиразол-4-карбоксамида (C2; FRAC 7). Делује протективно, куративно и ерадикативно. Инхибира клијање спора, издуживање хифа и раст мицелије. Одликује га изврсна системичност, са акропеталном транслокацијом (путем ксилема). Флуксапироксад може да се креће и у липофилном и у хидрофилном окружењу. Када је на лисној површини долазе до изражаја његова липофилна својства, а када доспе у биљку трансформише се у хидрофилан облик који му омогућа изврсну покретљивост у биљци. Апсорбује се површинским воштаним слојем, одакле се даље редистрибуира. Део супстанце остаје на површини листа, стварајући униформан филм који обезбеђује резидуалност и продужену заштиту листа (Tabanelli et al., 2014). Поседује широк спектар деловања, а нарочито добро делује на проузроковаче пепелница (*E. necator*, *P. leucotricha*, *B. graminis*, *S. pannosa* и др.), али и на друге економски значајне патогене као што су *V. inaequalis*, *V. pyrina*, *D. applanata*, *Septoria spp.*, *P. teres*, *Cercospora beticola*, *Alternaria spp.*, *Tilletia spp* (Tabanelli et al., 2014; Стевић, 2020). У заштити винове лозе од проузроковача пепелнице одликује се високом ефикасношћу и последњих неколико година је неизоставан сегмент модерне заштите винове лозе (Tabanelli et al., 2014; Valente et al., 2018; Dongiovanni et al., 2016, 2018).

2.6.5 DMI фунгициди

Овој групи фунгицида припадају: триазоли, имидазоли, пиперазини, пиридини, пиримидини и триазолинтиони, и означени су као класа I фунгицида у оквиру инхибитора биосинтезе стерола (FRAC, SBI I - G1). Заједничко за све ове групе је што имају исти механизам деловања, односно спречавају одвајање метил групе (CH₃), која је везана за четрнаести угљеников атом (C₁₄) у α положају на молекулу ланостерола или 24-метилен дихидроланостерола. Једињења која се одликују оваквим механизмом деловања означена су заједничким именом DMI фунгициди (енг. *DeMethylation Inhibitors*). Ову групу фунгицида сачињавају једињења која се углавном одликују израженим системичним својствима. Сва једињења имају способност продирања у биљно ткиво кроз кутикулу на листовима. Након пенетрације, DMI фунгициди се могу кретати путем симпласта или апопласта. Пенетрација кроз младе, делимично неотворене листове је знатно бржа него кроз старије (Ziogas and Malandrakis, 2015; Стевић, 2020).

Захваљујући системичним својствима, DMI фунгициди имају изражен куративни ефекат у сузбијању бројних патогена, јер се применом ових фунгицида чак и након остварене инфекције (24-72 часова) може обезбедити ефикасна заштита. Једињења попут миклобутанила и фенбуконазола могу и до три дана након остварене инфекције да зауставе развој *V. inaequalis*. Ово је једна од најмоћнијих група фунгицида, обзиром да се поједине активне супстанце користе у дози од 20 до 50 грама по хектару. Осим фунгицидног, ови фунгициди испољавају и ефекте карактеристичне за регулаторе раста (скраћивање интернодија и избојака, потамњивање листова), нарочито у већим концентрацијама примене, када блокирају биосинтезу гиберелина (Стевић, 2020).

Ови фунгициди спречавају одвајање метил групе (CH₃) која је везана за четрнаести угљеников атом (C₁₄) у α положају на молекулу ланостерола или 24-метилен дихидроланостерола, који су прекурсори у биосинтези ергостерола, најважнијег стерола код већине гљива. Као последица неодвајања метил групе, долази до акумулације метилованих стерола, које гљива не може да искористи за изградњу ћелијског зида, што за последицу има престанак раста хифа и мицелије. Деметилација (C₁₄) ланостерола се одвија посредством ензима цитохром P450 оксигеназе, која је једна врста хемопротеина. DMI фунгициди се везују за хем-гвожђе цитохрома P450 са атомом азота и инхибирају везивање кисеоника и његов трансфер на C₁₄ метил групу ланостерола. Једињења из ове групе не инхибирају клијање спора, зато што гљиве поседују значајне резерве ергостерола, које се троше током клијања, али утичу на функционалност мембрана. Из овог разлога, DMI фунгициде треба користити након клијања спора, односно у раној фази патогенезе, када испољавају максималан фунгицидни учинак (Burden et al., 1989; Ziogas and Malandrakis, 2015; Стевић, 2020). За сузбијање проузроковача пепелнице винове лозе највише се користе фунгициди из групе триазола, од којих су најзначајнији: миклобутанил, дифеноконазол, тебуконазол и пенконазол.

Тебуконазол

У примену је уведен 1986. године, а синтетисала га је компанија Bayer. Слабо се раствара у води, добро у органским растварачима, поседује висок подеони коефицијент и не делује парам. Системични фунгицид, са превентивни и куративним деловањем, али и ерадикативним у извесном степену. Након примене брзо се апсорбује и транслоцира

ксилемом. Може да се користи за фолијарну примену или третирање семена. Ефикасан је у сузбијању бројних патогена: стрних жита (*Puccinia spp.*, *Blumeria graminis*, *S. tritici*, *Tilletia spp.*, *Ustilago spp.*), јабучастих воћака (*V. inaequalis*, *P. leucotricha*), винове лозе (*E. necator*), коштичавих воћака (*Monilinia spp.*), шећерне репе (*C. beticola*) и различитих украсних биљака (Стевић, 2020). У заштити винове лозе примењује се самостално или у комбинацији са фунгицидима из других група (Prandi et al., 2002; Bacci, 2006; Egger, 2008; Dongiovanni et al., 2010; Cavazza et al., 2018; Valente et al., 2018).

Пенконазол

Уведен у примену средином 80-их година прошлог века, од стране компаније Syngenta. Слабо се раствара у води, а изузетно добро у органским растварачима. Има висок подеони коефицијент и не делује парама. Системични фунгицид са израженим превентивним и куративним деловањем, а у извесном степену испољава и ерадикативно деловање. Брзо се усваја преко листова и транслоцира у биљкама акропетално. Отпоран је на спирање кишом. На тржишту је доступан у виду формулација концентрата за емулзију или емулзије уља у води. Углавном се користи за сузбијање проузроковача пепелница: *E. necator*, *P. leucotricha*, *S. pannosa*, *E. cichoracearum*, *S. fuligena* и др (Pose-Juan et al., 2010; Husak et al., 2017). У заштити винове лозе се претежно примењује самостално или у комбинацији са сумпором и среће се често као саставни део бројних програма заштите, нарочито у Италији (Brunelli et al., 1992; Aloï et al., 1998; Prandi et al., 2002; Bacci, 2006; Egger, 2008; Kast and Bleyer, 2011; Rubboli et al., 2014; Guario et al., 2014; Dongiovanni et al., 2016; Valente et al., 2018).

Миклобутанил

Уведен је у примену 1987. године, синтетисан од стране компаније Rohm and Haas. Слабо растворљив у води, добро у органским растварачима, има висок подеони коефицијент. Одликују га добра системична својства, испољава изражено превентивно и куративно деловање. У спектру деловања му се налазе бројне гљиве из различитих класа (Ascomycetes, Basidiomycetes и Deuteromycetes) попут: *E. necator*, *P. leucotricha*, *S. pannosa*, *Monilinia spp.*, *Venturia spp.*, *E. cichoracearum*, *Puccinia spp* (Стевић, 2020). Од 2022. године не налази се на листи дозвољених средстава за заштиту биља у Европској Унији. У заштити винове лозе користио се самостално или у комбинацији са другим фунгицидима (Brunelli et al., 1992; Bacci, 2006; Egger, 2008; Dongiovanni et al., 2010, 2018; D'Arcangelo et al., 2010; Kast and Bleyer, 2011; D'Ascenzo et al., 2012; Guario et al., 2014; Cavazza et al., 2016).

Дифеноконазол

Уведен је у примену 1988. године од стране компаније Ciba-Geigy. Слабо се раствара у води, добро у већини органских растварача, слабе испарљивост, а одликује га и висок подеони коефицијент. Карактерише се јако добрим системичним својствима, има изражено превентивно, куративно и ерадикативно деловање. Примењује се фолијарно и за третирање семена. Ефикасан је у сузбијању бројних фитопатогених гљива као што су: *E. necator*, *Guignardia bidwelli*, *P. leucotricha*, *V. inaequalis*, *Monilinia spp.*, *Septoria spp.*, *Alternaria spp.*, *Mycosphaerella fragariae* и др (Стевић, 2020). У заштити винове лозе примењује се

самостално или у комбинацији са другим фунгицидима (Brunelli et al., 1992; Rubboli et al., 2014; Viglione et al., 2014; Valente et al., 2018; Cavazza et al., 2018).

Мефентрифлуконазол

Нова активна супстанца развијена од стране компаније BASF и уведена у примену 2018. године. Припада новој поткласи изопропанол-триазол фунгицида. Слабо растворљив у води, пуферским растворима и ксилену, умерено растворљив у већини органских растварача, није испарљив. Захваљујући присуству изопропанол групе, молекул је прилично флексибилан и адаптибилан, те се јако добро везује на циљано место деловања. Ово је фунгицид са протективним и куративним деловањем и користи се за сузбијање патогена стрних жита (*Septoria* spp., *Puccinia* spp., *Ramularia collo-cygni*, *Rhynchosporium secalis*), јабуке (*V. inaequalis*, *P. leucotricha*), винове лозе (*E. necator*, *G. bidwellii*), коштичавог воћа (*Monilinia* spp.), соје, шећерне репе, пиринча, кромпира и др. (Heinecke et al., 2019; Zappata et al., 2020; Hoffmeister et al., 2022; Милутиновић и сар., 2023; BASF, 2023). Постоје одрђени подаци о потенцијалној укрштеној резистентности са другим ДМІ фунгицидима, али са одређеним варијацијама у погледу осетљивости (Ishii et al., 2021). Zappata et al. (2020) наводе високу ефикасност мефентрифлуконазола у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе у Италији.

2.6.6 Спирокетал-амини

Једини представник из групе спирокетал-амини који се данас користи у заштити биља је спироксамин. Спирокетал-амини су подгрупа у оквиру амина, који су према FRAC-у означени као класа II фунгицида који инхибирају биосинтезу стерола (FRAC, SBI II - G2). У оквиру амина, постоје још две групе: морфолини и пиперидини. Ова једињења интерферирају у каснијим фазама биосинтезе ергостерола, блокирајући ензим Δ_{14} редуктазу, односно $\Delta_7 - \Delta_8$ изомеразу. Иако изворно инхибирају биосинтезу ергостерола, треба нагласити да услед специфичног механизма инхибитора Δ_{14} редуктазе, односно $\Delta_7 - \Delta_8$ изомеразе нема укрштене резистентности са ДМІ фунгицидима, што је од великог практичног значаја (Стевић, 2020).

Спироксамин

Уведен је у примену 1997. године. У киселој средини (рН 3) добро се раствара у води, док у неутралној и слабо алкалној (рН 7-9) средини, веома слабо. Средње испарљив, има релативно висок подеони коефицијент. Испољава превентивно, куративно и ерадикативно деловање. Спироксамин је системични фунгицид, који се након примене брзо усваја и у биљци транслоцира акропетално (Стевић, 2020). Овај фунгицид се налази у облику два диастереомера, а сваки од њих има два енантиомера који поседују фунгицидно деловање. Енантиомери осим што инхибирају Δ_{14} редуктазу и изомеразу, могу реметити и активност сквален епоксидазе и епоксисквален циклaze у процесу биосинтезе стерола (Zappata et al., 2002).

Након 10 минута од примене, 11% супстанце се усвоји и пенетрира у лисно ткиво, а 3 сата од третирања се усвоји целокупна количина супстанце. Спироксамин блокира раст кличине цеви и формирање апресорија. У случају куративне примене (1-2 дана након

инфекције) може довести до деформације хаусторија. Одликује га и ерадикативно деловање, инхибира разношење конидија и уништава мицелију која се налази на лисној површини (Zappata et al., 2002).

Спироксамин има релативно узак спектар деловања, ограничен претежно на проузроковаче пепелница, и то две врсте *E. necator* и *B. graminis*, у односу на које испољава високу ефикасност. У литератури се наводи да поседује и извесну ефикасност у сузбијању *Puccinia* spp., *S. tritici*, *Pyrenophora teres* и *Rhynchosporium secalis* (Zappata et al., 2002; Стевић, 2020). Ризик од развоја резистентности је средњи и нема укрштене резистентности са ДМІ фунгицидима. У сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе испољава високу ефикасност и користи се као неизоставни део већине програма заштите (Bertocchi et al., 2008; Egger, 2008; Sozzani et al., 2008; 2010; Dongiovanni et al., 2016, 2018; Cavazza et al., 2018; Valente et al., 2018)

2.6.7 Азанафталени

Азанафталени су синтетисани 90-их година прошлог века, и то непосредно након открића стробилурина. Прво једињење из ове групе које је уведено у комерцијалну употребу, био је квиноксифен. Поред квиноксифена, у ову групу фунгицида спада и проквиназид. Према класификацији FRAC-а, азанафталене сачињавају две подгрупе: арилоксиквинолини (квиноксифен) и квиназолинони (проквиназид). За ове фунгициде је типично да имају узак спектар деловања, ограничен на патогене из фамилије *Erysiphaceae*, тј. проузроковаче болести типа пепелница (Стевић, 2020).

Механизам деловања ових фунгицида и даље није у потпуности разјашњен. Наводи се да ова једињења делују у процесу преноса (трансдукције) сигнала. Истраживања су показала да се након примене квиноксифена повећава транскрипција гена одговорних за функцију протеин киназе С и А у процесу формирања апресоријалне кличине цеви. Квиноксифен омета пријем сигнала након специфичног препознавања патогена и биљке домаћина, што је предуслов за клијање и диференцијацију конидија. Такође, примећено је да квиноксифен делује и на активност серин естеразе, што опет за последицу има сметње у преносу сигнала. Ови фунгициди су сврстани у групу са средњим ризиком од развоја резистентности, те је препорука да се њихова примена прилагоди мерама антирезистентне стратегије (Wheeler et al., 2003; Lee et al., 2008; Стевић, 2020).

Квиноксифен

Једињење синтетисано и развијено од стране компаније Dow Agro Sciences 1994. године. Одликује га слаба растворљивост у води, добра растворљивост у већини органских растварача, низак напон паре, али се помиње да може у извесном степену деловати гасном фазом. Системични фунгицид, који се у биљкама креће акропетално и базипетално. Карактерише га протективно деловање, а у извесном степену може остварити и куративан ефекат (до неколико часова након инфекције). Омета диференцијацију апресорија и спречава развој секундарних инфекција. Чврсто се везује за површину листова и бобица (отпоран на спирање кишом), одакле се може редистрибуирати, делом и путем гасне фазе, на незаштићене делове винове лозе. Користи се искључиво за сузбијање проузроковача пепелница (*E. necator* и *B. graminis*) у заштити винове лозе и стрних жита (Hollomon et al., 1997; Wheeler et al., 2003; Lee et al., 2008; Feng et al., 2018; Стевић, 2020). Од 2019. године не налази се на листи дозвољених пестицида у Европској Унији. У сузбијању *E. necator*

користио се самостално или у комбинацији са другим фунгицидима, и све док није званично повучен из употребе, био је један од кључних фунгицида у заштити винове лозе (Aloi et al., 1998; Prandi et al., 2002; Capella et al., 2006; Sozzani et al., 2008; Dongiovanni et al., 2010, 2016; Kast and Bleyer, 2011; Guario et al., 2014).

Проквиназид

Фунгицид синтетисан и равијен од стране компаније DuPont, у комерцијалну употребу уведен је 2005. године. Слабо растворљив у води, добро у већини органских растварања, поседује релативно низак напон паре, али се наводи да у извесном степену може деловати гасном фазом. Испољава дуготрајно превентивно деловање, са ограниченом куративном активношћу. Инхибира формирање и диференцијацију апресорија. У биљкама се ограничено креће (локалсистемик), углавном трансламинарно. Може деловати и гасном фазом, што омогућава његову редистрибуцију у незаштићене, околне, делове биљке. Чврсто се везује за површину листова и бобица код винове лозе, што га чини отпорним на спирање кишом. Испољава добру ефикасност и при нижим температурама. Одликује га и једна специфичност, а то је да се понаша као активатор отпорности код биљака, тј. стимулише индукцију протективних ензима. У спектру деловања налазе се проузроковачи пепелница и то: *E. necator*, *E. cichoracearum*, *B. graminis*, *P. leucotricha* (Selby et al., 2007; Genet and Jaworska, 2009; Gilbert et al., 2009; Rather et al., 2019; Стевић, 2020). На основу доступних литературних података, претежно од аутора из Италије, проквиназид испољава високу ефикасност у сузбијању *E. necator* (Genet et al., 2004; Pianella et al., 2006; Sozzani et al., 2008; D'Arcangelo, 2010; Dongiovanni et al., 2010; Hoffmann et al., 2012; Rubboli et al., 2014).

2.6.8 Арил-фенил кетони

До 2018. године, ови фунгициди су, према FRAC-у, сврставани у групу са непознатим механизмом деловања, да би се након тога извршила њихова рекласификација и сада се налазе у групи В6 (деловање на цитоскелет и моторне протеине). Арил-фенил кетоне сачињавају две подгрупе: бензофенони и бензоилпиридини. Првој подгрупи припада метрафенон, а другој пириофенон. Ови фунгициди се специфично користе за сузбијање проузроковача пепелница, тј. гљива из фамилије *Erysiphaceae* (Стевић, 2020).

Механизам ових фунгицида није до краја разјашњен. Сматра се да ова једињења делују у процесу деобе ћелија, ометајући функцију моторних и структурних протеина (актина, фимбрина и миозина). Изазивају делокализацију актина, чиме се нарушава грађа цитоскелета. Арил-фенил кетони доводе до малформација инфекционих структура код *B. graminis*, затим деформације апресорија, пуцање врхова хифа, што указује да у патогенези делују највероватније у процесу хифалне морфогенезе и поларизованог хифалног раста. Према FRAC-у, сврстани су у групу фунгицида са средњим ризиком од развоја резистентности (Schmitt et al., 2006; Opalski et al., 2006; Стевић, 2020).

Метрафенон

Активна супстанца синтетисана и развијена од стране BASF почетком 21. века. Слабо растворљива у води, добро у органским растварањима, одликује се ниским напоном паре и

високим подеоним коефицијентом, а има и повољан токсиколошки профил. Поседује превентивно, куративно и у извесном степену ерадикативно деловање. Инхибира клијање спора и формирање апресорија. Испољава изражено антиспорулативно деловање. Примењује се у заштити винове лозе (*E. necator*), стрних жита (*B. graminis*), биљака из фамилије *Cucurbitaceae* (*E. cichoracearum*) и заштити печурака (*Dactylium denroides*) (Kohle et al., 2004; Opalski et al., 2006; Capriotti et al., 2006; Felsenstein et al., 2010; Kunova et al., 2016; Стевић, 2020). Према доступним литературним налазима, метрафенон испољава високу ефикасност у заштити винове лозе од проузроковача пепелнице и интегрални је део многих савремених програма заштите (Scannavini et al., 2006; D’Arcangelo et al., 2010; Dongiovanni et al., 2010, 2016, 2018; Kast and Bleyer, 2011; Hoffmann et al., 2012; Rubboli et al., 2014; Viglione et al., 2014; Guario et al., 2014; Cavazza et al., 2018; Valente et al., 2018).

Пириофенон

Фунгицид откривен и развијен од стране компаније ISK (Јапан), почетком друге деценије 21. века. Настао по узору на хемијску структуру метрафенона, са одређеним модификацијама. Слабо растворљив у води, добро у органским растварачима, поседује низак напон паре и висок подеони коефицијент. Делује превентивно и куративно. У биљкама се транслоцира ограничено, испољава локал-системични карактер и трансламинарну активност. Инхибира формирање апресорија, доводи до колапса врхова хифа и одликује се антиспорулативним деловањем. Најчешће се користи за сузбијање *E. necator*, мада се наводи и његова употреба у заштити стрних жита и биљака из фамилије *Cucurbitaceae* (Ogawa et al., 2012; Chung et al., 2017; Jeanmart et al., 2015; Стевић, 2020). Као и метрафенон, и пириофенон испољава високу ефикасност у сузбијању *E. necator* (Ogawa et al., 2012; Scannavini et al., 2012; Morando et al., 2014; Guario et al., 2014).

2.6.9 Фенил-ацетамиди (цифлуфенамид)

Цифлуфенамид је фунгицид који је развијен почетком 21. века од стране компаније Nirron Soda. У земљама Европске Уније уведен је у примену 2007. године. Практично нерастворљив у води, добро растворљив у већини органских растварача, има висок подеони коефицијент. Релативно је испарљиво једињење, па у одређеном степену може деловати и парам (гасном фазом). То је фунгицид са протективним, а у извесној мери и куративним деловањем. Инхибира формирање и развој хаусторија, пораст хифа, формирање конидиофора, спречава развој мицелије, а готово да нема утицаја на клијање спора и развој апресорија. Након 24 сата од примене, примећено је да долази до пуцања врхова кличичних? цеви. Локалсистемичног карактера, са претежно трансламинарним кретањем у биљном ткиву. Механизам деловања је и даље неразјашњен, али се на основу доступних литературних података, говори да овај фунгицид не интерферира у процесима ћелијске деобе, синтезе стерола и липида, функцијама ћелијских мембрана и процесима ћелијског дисања. Ови подаци указују да није утврђено постојање унакрсне резистентности са неком од важнијих група фунгицида као што су DMI, QoI, SDHI фунгициди и др. Спектар његовог деловања је углавном ограничен на проузроковаче пепелница, тј. гљива из фамилије *Erysiphaceae* (*E. necator*, *P. leucotricha*, *S. pannosa*, *E. cichoracearum*, *P. xanthi*, *Podosphaera macularis*), с једним изузетком, *Monilinia fructicola* у односу на коју испољава јако

инхибиторно деловање (Hosokawa et al., 2006; Haramoto et al., 2006a,b; Sano et al., 2007; Cortesi et al., 2012; Стевић, 2020). Цифлуфенамид испољава високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе и данас је интегрални сегмент бројних програма заштите, нарочито у Италији (D'Ascenzo et al., 2012; Cortesi et al., 2012; Guario et al., 2014; Morando et al., 2014; Viglione et al., 2014; Rubboli et al., 2014; Dongiovanni et al., 2016, 2018; Valente et al., 2018).

Табела 1. Својства најважнијих фунгицида за сузбијање *E. necator*

Назив групе (FRAC код)	Једињење	Покретљивост (редистрибуција)	Начин деловања
QoI фунгициди (11)	Пиракlostробин	Трансламинарни фунгицид	Протективно, у извесном степену куративно
	Крезоским-метил	Трансламинарни фунгицид, у извесном степену делује у гасној фази	Протективно и куративно
	Трифлуксистробин	Трансламинарни фунгицид, у извесном степену делује у гасној фази	Протективно, у извесном степену куративно
SDHI фунгициди (7)	Боскалид	Трансламинарни фунгицид, системична покретљивост путем ксилема	Протективно и у извесном степену куративно
	Флуопирам	Трансламинарни фунгицид, ограничена системична покретљивост	Протективно и у извесном степену куративно
	Флуксапироксад	Системична покретљивост путем ксилема	Протективно, куративно и у извесном степену ерадикативно
DMI фунгициди – триазоли (3)	Тебуконазол	Трансламинарни фунгицид, системична покретљивост путем ксилема, у извесном степену делује и у гасној фази	Протективно, куративно и ерадикативно
	Миклобутанил	Системична покретљивост путем ксилема, у извесном степену делује и у гасној фази	Протективно и куративно
	Пенконазол	Системична покретљивост путем ксилема	Протективно, куративно и у извесном степену ерадикативно
	Дифеноконазол	Системична покретљивост путем ксилема	Протективно, куративно и ерадикативно
DMI фунгициди – спирокетал-амини (5)	Спироksamин	Системична покретљивост путем ксилем	Протективно, куративно и ерадикативно
Азанафталени (13)	Квиноксифен	Трансламинарни фунгицид, системична покретљивост, у	Протективно

	Проквиназид	извесном степену делује и у гасној фази Трансламинарни фунгицид, у извесном степену делује и у гасној фази	Протективно и ограничено куративно
Арил-фенил кетони (50)	Метрафенон	Трансламинарни фунгицид, у извесном степену делује и у гасној фази	Протективно, куративно и у извесном степену ерадикативно
	Пириофенон	Трансламинарни фунгицид, са локал-системичним својствима	Протективно и куративно
Динитрофенил- кротонати (29)	Мептил-динокап	Неситемик	Протективно и куративно
Фенил-ацетамиди (U06)	Цифлуфенамид	Трансламинарни фунгицид, делује у гасној фази	Протективно и у извесном степену куративно
Неоргански фунгициди (M2)	Сумпор	Несистемик, делује у гасној фази	Протективно, у извесном смислу куративно

2.7 Развој резистентности *E. necator* на различите фунгициде

Увођењем специфичних фунгицида са системичним деловањем 60-их година прошлог века, започела је нова ера у заштити биља, али исто тако појавио се проблем са развојем резистентности патогена на нова једињења, првенствено због њиховог уско специфичног механизма деловања. Континуирана примена системичних фунгицида са „*single-site*“ деловањем и повећање селекционог притиска, довели су до брзог развоја резистентности код популација *E. necator*, најчешће индуковањем појединачних мутација на циљаним позицијама везивања фунгицида у организму патогена (Dèlye et al., 1997; Baudoin et al., 2008; Colcol 2008; Rallos 2012; Cherrad et al., 2018). Као последица јавља се знатно смањена ефикасност тих једињења у практичним условима примене, а последњих година се у свету интензиварају бројна истраживања везана за ову појаву (Frenkel et al., 2015; Colcol and Baudoin, 2016).

2.7.1. Резистентност *E. necator* на QoI фунгициде

Једињења из групе QoI фунгицида сузбијају велики број патогена, имају широку примену у заштити биља, одликују се протективним, куративним и, у одређеном степену, ерадикативним својствима. То су претежно ограничени системици са јако специфичним механизмом деловања који се огледа у прекиду транспорта електрона од цитохрома *b* до цитохрома *c₁*, везујући се за убиквинол оксидациони центар (Qo) услед чега изостаје синтеза АТП-а и инхибира се митохондријална респирација код гљива (Bartlett et al., 2002). Управо је тај њихов уско специфичан механизам деловања представљао окидач за брзи развој резистентности, само неколико година након увођења у примену (1998. године), код популација *B. graminis* у Немачкој (Sierotzki et al., 2000). Убрзо након тога, откривене су и друге резистентне популације бројних патогена на QoI фунгициде (*V. inaequalis*, *P. viticola*, *Mycosphaerella fijenensis*, *Pseudoperospora cubensis*, *D. bryoniae*), али и механизми који доводе до појаве резистентности (Sierotzki et al., 2000; Gisi et al., 2000; Bartlett et al., 2002). Према доступној литератури, први налази резистентности код популација *E. necator* на QoI фунгициде датирају од пре неких 15-20 година и од тада се овај проблем шири изузетно брзо на глобалном нивоу (Wilcox et al., 2003; Baudoin et al., 2008; Dufour et al., 2010; Milles et al., 2012; Rallos et al., 2014; Colcol and Baudoin, 2016; Beresford et al., 2016). У Европи, према подацима организације FRAC (2014, 2018, 2022a) висока резистентност популација *E. necator* на QoI фунгициде од 2013. до 2021. године утврђена је у Аустрији, Хрватској, Чешкој, Француској, Немачкој, Мађарској, Румунији, Словачкој, Швајцарској, Италији, Грчкој, Португалу и Турској.

Механизам резистентности заснива се на мутацијама у оквиру цитохром *b* гена (*cyt b*), које доводе до промена у аминокиселинској секвенци, односно долази до супституције једне аминокиселине другом на одређеној позицији, те је онемогућено везивање фунгицида за циљано место деловања (Rallos, 2012). У природним условима, детектоване су три мутације код патогена резистентних на QoI фунгициде: G143A (замена глицина са аланином на позицији 143); F129L (замена фенил-аланина са леуцином на позицији 129) и G137R (замена глицина са аргинином). Мутације F129L и G137R резултирају појавом умерено резистентних популација, и до сада нису детектоване код проуроковача пепелница. Јака и стабилна резистентност утврђена је код мутације G143A, и ово је, свакако, најзначајнија мутација код популација *E. necator* које су развиле резистентност на QoI фунгициде (Gisi et al., 2002; Ma and Michailides, 2005; Sierotzki et al., 2007; Baudoin et al., 2008; Rallos,

2012; Rallos et al., 2014). Код популација *E. necator* где је установљено присуство G143A мутације, развија се јака и стабилна резистентност, која се не губи, тј. нормална осетљивост популације не може се опет успоставити, чак и када се у програмима неколико година узастопно изоставе QoI фунгициди. Ови налази указују да, када једном популација са G143A мутацијом развије резистентност на QoI фунгициде, њихова даља примена није могућа и треба их у потпуности елиминисати из програма заштите винове лозе (**Rallos et al., 2014**).

Осим мутација, постоји и други тип резистентности патогена на QoI фунгициде, који се повезује са индукцијом алтернативних оксидаза (АОХ), а овај феномен се често појављује у лабораторијским (*in vitro*) испитивањима (**Ma and Michailides, 2005**). Наводи се углавном да овај тип резистентности није од значаја за практичну резистентности, али **Wood and Hollomon (2003)** наводе да се индукција алтернативних оксидаза одиграва у пост-герминативној фази, што објашњава лошу ерадикативну активност QoI фунгицида у односу на бројне гљиве. Према резултатима **Rallos (2012)** салицилхидроксиаминска киселина (SHAM) која се користи у спречавању индукције АОХ, код популација *E. necator* које су резистентне (са G143A мутацијом) утиче на повећану резистентност, али исто тако код осетљивих (без G143A мутације) драстично повећава осетљивост, што указује да овај тип резистентности нема утицаја на популације *E. necator* у лабораторијским *in vivo* испитивањима, док у тестовима за испитивање клијавости спора може имати значај (**Miles et al., 2012**).

Постојање мутације G143A у оквиру *cytb* гена која доводи до развоја високе резистентности код популација *E. necator* може се утврдити помоћу real-time PCR (Q-PCR) технике. Први који су развили ову технику за детекцију G143A мутације код популација *E. necator* били су **Baudoin et al. (2008)**. Ова техника базира се на специфичним прајмерима, тј. сетовима специфичних прајмера: прајмер за тзв. „wild-type“ алел (популација код које није дошло до мутације и развоја резистентности), прајмер за тзв. „mutant“ алел (популација код које је дошло до мутације и развоја резистентности) и реверзни прајмер (који је заједнички за претходна два). За детекцију резистентности постоје два различита приступа: 1) ARMS (енг. *Amplification Refractory Mutation System*) који почива на употреби SYBR Green технологије која је обично јефтинија; 2) TaqMAN qPCR/ddPCR (енг. *digital droplet PCR*) који почива на употреби TaqMAN технологије која је нешто скупља и прецизнија од претходне (**Kunova et al., 2021**). Осим употребе молекуларних метода за утврђивање резистентности (осетљивости) на QoI фунгициде код *E. necator*, користе се и биотестови, односно тзв. тест са лисним дисковима. Развијени су различити протоколи и њихове модификације за извођење овог *in vivo* теста и данас се користе у бројним истраживањима (**Baudoin et al., 2008; Colcol, 2008**). **Baudoin et al. (2008)** су открили постојање G143A мутације код 3 од 4 изолата *E. necator* пореклом из Северне Каролине и Вирџиније, док је методом са лисним дисковима установљено 20 резистентних од укупно 22 тестирана изолата на азоксибробин, чије су EC₅₀ вредности биле веће од 1 ppm (пораст забележен и при концентрацијама 10 и 30 ppm). У истраживању **Dufour et al. (2011)** у једном региону Француске детектована је мутација G143A, која је била заступљена код 20,3% изолата, што је преведено на ниво читаве Француске износило 5,3% од укупно 111 тестираних изолата. Истраживање које су спровели **Miles et al. (2012)**, а које је обухватило тестирање 172 изолата из 21 винограда на подручју Мичигена (3 без историје примене фунгицида, 6 експерименталних и 12 комерцијалних винограда), показало је заступљеност G143A мутације код укупно 54 изолата. Сви изолати код којих је детектована ова мутација били су

резистентни на трифлуксистеробин у биотесту и имали су EC_{50} вредности $> 1 \mu\text{g/ml}$. **Colcol and Baudoin (2016)** су установили да уколико је проценат G143A $< 1\%$, онда се ради о осетљивим изолатима, док висок проценат G143A мутације (обично 99%) указује на високо резистентне популације. Од укупно 112 тестираних изолата, 73% је имало G143A $> 1\%$ (око 99%) и EC_{50} вредности за азоксистеробин биле су $> 10 \mu\text{g/ml}$. Преосталих 23% изолата имали су G143A $< 1\%$ и код 28 изолата EC_{50} вредности су биле $< 1 \mu\text{g/ml}$, док се код 14 изолата EC_{50} кретала између 1 и $10 \mu\text{g/ml}$. **Beresford et al. (2016)** су детектовали резистентне популације *E. necator* на трифлуксистеробин, где су утврђене EC_{50} вредности биле $> 100 \mu\text{g/ml}$. У истраживањима која су спроведена у Џорџији (САД), **Warres (2021)** и група сарадника, утврдили су у 9 од 12 винограда присуство резистентних популација на QoI фунгициде са G143A мутацијом. У 7 од 9 винограда, 100% тестираних изолата је носило ову мутацију.

2.7.2 Резистентност *E. necator* на DMI фунгициде

Услед дугогодишње примене једињења из групе DMI фунгицида у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, дошло је до промена у осетљивости популација и развоја резистентности овог патогена широм света (**Delye et al., 1997; Dufour et al., 2011; Frenkel et al., 2015; Colcol et al., 2012; Rallos and Baudoin, 2016; Ghule et al., 2019**). DMI фунгициди уведени су у употребу 1979. године, синтезом триадимефона, а затим је уследила њихова експанзија у развоју, па су за сузбијање *E. necator* дуго година успешно коришћени фенаримол, триадименол, миклобутанил, тебуконазол, пенконазол, дифеноконазол и др. (**Colcol et al., 2012**). Још 1986. године, забележени су слаби ефекти триадимефона у сузбијању *E. necator*, а касније је и потврђена резистентност (**Gubler et al., 1996**). До сада, установљено је присуство резистентних популација *E. necator* на DMI фунгициде у: САД (**Gubler et al., 1996; Ericson and Wilcox, 1997; Colcol, 2008; Colcol et al., 2012; Rallos, 2012; Rallos and Baudoin, 2016; Warres, 2021**), Европи (**Delye et al., 1997; Steinkellner and Redl, 2001; Dufour et al., 2011; Miazzi and Hajjeh, 2011**), Аустралији и Новом Зеланду (**Scott, 2001; Beresford et al., 2016**), Чилеу (**Frenkel et al., 2015**), Јужној Африци (**Haalen et al., 2000**), Индији (**Ghule et al., 2019**).

DMI фунгициди инхибирају ензим цитохром P450 стерол 14 α -деметилазу (P450_{14dm}), који је контролисан 14-ебурикол деметилаза геном (*суп51*) и који је одговоран за процес биосинтезе ергостерола. Резистентност патогена на DMI фунгициде је мултигенске природе и има квантитативни карактер (**Dufour et al., 2011; Rallos, 2012**). Генерално, механизми резистентности гљива на DMI фунгициде могу се поделити у три категорије:

1) промена места деловања – у оквиру *суп51* гена може доћи до тачкастих мутација, међу којима је најпознатија Y136F (замена тирозина са фенилаланином на позицији 136). До ове мутације, доводи замена нуклеотида на позицији 495 (A495T). Мутација Y136F је одговорна за резистентност популација *E. necator* на DMI фунгициде, и откривена је код изолата резистентних на триадименол, а код којих је фактор резистентности (RF) био > 5 (**Delye et al., 1997**). Мутација је детектована на CR2 делу *суп51* гена, који има улогу у препознавању супстрата. Наиме, утврђено је да ова мутација смањује афинитет ензима за фунгициде из групе траизола, због изражене хидрофобности циљаног места. То се дешава јер фенилаланин има неполаран спољни ланац, а тирозин поларан (**Delye et al., 1998**). **Dufour et al. (2011)** су детектовали ову мутацију код изолата прикупљених из различитих винограда Француске, где је проценат резистентних изолата, утврђен на националном

нивоу, био 11,81% (од укупно 111 изолата), а у једном региону код више од 30% изолата је потврђено присуство мутације.

2) прекомерна експресија *sup51* гена – када се говори о овом механизму у контексту резистентности *E. necator*, или долази до прекомерне експресије или повећања броја копија овог гена код резистентних изолата (Frenkel et al., 2014; Rallos and Baudoin, 2016). Мутација A1119C детектована је код изолата са повећаном експресијом *sup51* гена, али ова мутација не доводи до супституције аминокиселина (промена у аминокиселинској секвенци) у оквиру *sup51* гена. Претпоставља се да A1119C више утиче на стабилност mRNA или је у вези са неком другом неоткривеном мутацијом, одговорном за прекомерну експресију (Frenkel et al., 2015; Kunova et al., 2021). Додатно, утврђено је да се повећан број копија *sup51* гена доводи у везу са резистентношћу *E. necator* на DMI фунгициде, а нарочито овакав механизам резистентности долази до изражаја у комбинацији са Y136F мутацијом (Jones et al., 2014; Rallos and Baudoin, 2016).

3) повећана активност ефлуксних транспортера – код овог механизма долази до прекомерне експресије гена одговорних за активност главних ефлуксних транспортера код гљива означених као ABC (енг. *ATP Binding Cassette*) и MFS (енг. *Major Facilitator Superfamily*). Међутим, овај механизам није у асоцијацији са резистентношћу код *E. necator*, већ је много значајнији код других патогена попут: *F. graminearum*, *M. fructicola*, *Mycosphaerella graminicola*, *B. cinerea* и др. (Rallos, 2012; Frenkel et al., 2015).

Резистентност на DMI фунгициде је окарактерисана као полигенска, али чињеница да је у највећем броју случајева код резистентних популација *E. necator* на ову групу фунгицида утврђена тачкаста мутација Y136F, чини ову констатацију прилично контроверзном. С друге стране, поједини аутори ове тврдње поткрепљују хипотезом да осим „мајор“ гена који учествује у резистентности, постоје и друге генетске структуре које интерферирају и које чине ту резистентност знатно стабилнијом и јачом. Наиме, утврђено је да уколико међу популацијом *E. necator* егзистирају искључиво Y136F мутације, то не значи нужно да ће бити развијена висока резистентност. Штавише, код појединих популација где је потврђена висока резистентност, није било доминантно присуство Y136F мутација, па сама детекција ових мутација није довољан показатељ резистентности једне популације. Теорија која је много прихватљивија је да је развој резистентности *E. necator* на DMI фунгициде комплексан и да је контролисан већим бројем механизма. Стога је врло важно имати увид у механизме резистентности, тј. треба утврдити који механизам доминира у једној популацији, и спреам тога бирати адекватне фунгициде за заштиту, јер преодминантни механизам може имати утицаја на развој унакрсне резистентности (Delye et al., 1997; Miazzi and Hajjeh, 2011; Frenkel et al., 2015; Kunova et al., 2021).

Резистентност *E. necator* на DMI фунгициде може се утврдити спровођењем биотестова (тест са лисним дисковима) или молекуларних метода. Суштински, најбоље је комбиновати методе како би се добили прецизнији резултати, јер као што је споменуто, детекција Y136F мутације не значи нужно и високу резистентност. За детекцију Y136F, примењује се најчешће real-time PCR (Q-PCR), коришћењем високо специфичних прајмера који ће потврдити да ли је присутна или одсутна мутација у оквиру популације, употребом SYBR Green технологије или TaqMAN технологије (Dufour et al., 2011; Rallos and Baudoin, 2016; Pintye et al., 2020). Поред Q-PCR, могућа је и примена конвенционалног или тзв. „nested“ PCR-а (Miazzi and Hajjeh, 2011; Frenkel et al., 2015; Rallos and Baudoin, 2016; Ghule et al., 2019). За детекцију повећане експресије *sup51* гена која је у вези са заменом

нуклеотида A1119C, може се користити конвенционални PCR уз коришћење адекватних прајмера (Frenkel et al., 2015).

Биотестови за утврђивање осетљивости популација *E. necator* на DMI фунгициде су саставни део бројних истраживања и представљају полазну основу за детерминисање резистентности. У истраживању Colcol et al. (2012) код нормално осетљиве популације, просечне EC₅₀ вредности за миклобутанил и тебуконазол биле су 0,025 и 0,089 µg/ml, док су код резистентних изолата просечне EC₅₀ вредности биле 3,58 (просечан RF за миклобутанил 144) и 6,65 µg/ml (просечан RF за тебуконазол 75). Frenkel et al. (2015) су испитивали осетљивост популација *E. necator* из САД и Чилеа на миклобутанил, где су се EC₅₀ вредности кретале у опсегу од 0,007 до 3,54 µg/ml. За нормално осетљиве популације просечна EC₅₀ била је 0,041 µg/ml, 0,7 µg/ml за популације код којих је детектована мутација Y136F, а 0,587 µg/ml за популације код којих је утврђено присуство A1119C мутације која доводи до повећане експресије *sup51* гена. У истраживању Miazzi and Hajjeh (2011) код популација које су високо резистентне на триадименол EC₅₀ вредности биле су >3 mg/l, код умерено резистентних 1-3 mg/l, код слабо резистентних 0,5-1 mg/l, и код нормално осетљивих < 0,5 mg/l. Резултати истраживања Rallos and Baudoin (2016) су показали да код нормално осетљивих популација, чији су фактори резистентности < 3 није детектована мутација Y136F. Код високо резистентних популација, код појединих изолата где је фактор резистентности за миклобутанил био > 100, приустни су искључиво алели за мутацију (чисти мутанти), а код појединих истим факторима резистентности, били су детектовани и алели за нормално осетљиву и алели за резистентну популацију (mix „wild type“/“mutant“). Beresford et al. (2016) су утврдили присуство резистентних популација *E. necator* на миклобутанил и пенконазол, код којих су просечне EC₅₀ вредности биле 3-5 mg/l (за миклобутанил), односно > 1 mg/l (за пенконазол). Није утврђена укрштена резистентност између ова два фунгицида и ципроконазола (EC₅₀ < 0,1 mg/l). У истраживању Ghule et al. (2019) установљена је укрштена резистентност између миклобутанила и дифеноконазола, а изолати су груписани у нормално осетљиве уколико је минимална инхибиторна концентрација < 1 µg/ml, умерено резистентне уколико је од 1 до 10 µg/ml и резистентне > 10 µg/ml.

2.7.3 Резистентност *E. necator* на SDHI фунгициде

SDHI фунгициди делују у респираторном комплексу II, инхибирајући ензим сукцинат дехидрогеназу који има значајну улогу у циклус три карбоксилних киселина и респираторном ланцу. Овај ензим повезује оксидацију сукцината до фумарата (у циклусу три карбоксилних киселина) и редукцију убиквинона до убиквинола у транспортном ланцу електрона. SDH комплекс је изграђен од четири подјединице, од којих су за деловање ових фунгицида, најзначајније SdhB, SdhC и SdhD подјединице (Cherrad et al., 2018). Велики број мутација детектован је у оквиру ових подјединица код различитих патогена. Код *E. necator* до сада су детектоване укупно 4 мутације у оквиру SdhB и SdhC подјединице: В-Н242R, В-И244V, С-Г169D и С-Г169S (Graf, 2017). Према подацима FRAC-a (2022b), први налаз смањене осетљивости проузроковача пепелнице винове лозе на флуксапироксад забележен је у Италији 2014. и то код једног изолата, где је детектована мутација С-Г169D (глицин супституисан са аспартатском киселином на позицији 169 у оквиру SdhC подјединице). Мутација С-Г169D касније је откривена у Грчкој, Мађарској и Турској. Затим 2016. године детектована је и В-Н242R мутација (хистидин супституисан са аргинином на

позицији 242 у оквиру SdhB подјединице) код изолата из Словачке, Чешке, Мађарске и Француске. Ова мутација се током 2017. и 2018. године појавила и код изолата из Италије и Грчке, а 2019. детектована је у Турској и Украјини, а врло брзо и у Немачкој и Аустрији. Мутација С-G169S (глицин замењен серином на позицији 169 у оквиру SdhC подјединице), до сада је детектована у Немачкој у мањем проценту, а мутација В-I244V (изолеуцин замењен валином на позицији 244 у оквиру SdhB подјединице) потврђена је код једног изолата из Украјине и у мањем проценту код изолата из Немачке. Мутације у оквиру SdhB подјединице познате су и код других патогена, док су једино код *E. necator* откривене претходно наведене мутације у оквиру SdhC подјединице (**Graf, 2017; Kunova et al., 2021**).

Веома интересантна је чињеница да, у зависности од тога која је мутација присутна у популацији, у великој мери зависи и развој резистентности, тј. да ли ће доћи до развоја укрштене резистентности или неће. Уколико дође до В-H242R мутације, популација *E. necator* постаје јако резистентна на боскалид (RF > 100) и долази до укрштене резистентности са изопиразамом, а популација остаје осетљива на флуопирам и флуксапироксад. Развој В-I244V и С-G169S мутација води ка укрштеној резистентности између флуопирама и боскалида, али није нарушена ефикасност флуксапироксада. Међутим, уколико дође до индуковања С-G169D мутације у популацији, ствара се укрштена резистентност између свих SDHI фунгицида (боскалид, флуопирам, флуксапироксад, изопиразам, пентиопирад и бензовиндифлупир) (**Graf, 2017; Cherrad et al., 2018; Kunova et al., 2021**).

За утврђивање осетљивости и праћење развоја резистентности популација *E. necator* на SDHI фунгициде углавном се користе биотестови (тест са лисним дисковима), али последњих година уложени су додатни напори на унапређењу молекуларних метода, које су знатно брже и ефикасније. PCR техника је примењива код детекције мутација у оквиру SdhB подјединице (В-H242R и В-I244V) коришћењем специфичних прајмера уз конвенционално секвенционирање (**Cherrad et al., 2018**). Молекуларна детекција и карактеризација С-G169S и С-G169D мутације могућа је применом савремене тзв. Руге-sequencing технике, употребом врло специфичних прајмера (**Graf, 2017**). Два репрезентативна истрживања спроведена последњих година пружају увид у осетљивост различитих популација *E. necator* на SDHI фунгициде. **Cherrad et al. (2018)** су утврдили присуство резистентних изолата *E. necator*, прикупљених током 2014. и 2015. године, на боскалид. У тесту са лисним дисковима, коришћене су три концентрације боскалида: 15, 30 и 100 mg/l, и код укупно 9 изолата утврђене су EC₅₀ вредности > 100 mg/l, док су код нормално осетљивих изолата EC₅₀ вредности биле < 0,4 mg/l. Утврђено је и присуство В-H242R мутације, али и одсуство укрштене резистентности са флуопирамом и флуксапироксадом. У докторској дисертацији **Graf (2017)** детектоване су све 4 мутације везане за резистентност *E. necator* на SDHI фунгициде код изолата из Мађарске (H242R), Немачке (I244V), Грчке (G169D), Словеније (G169D) и Словачке (G169S). У тесту клијавости спора, код изолата са H242R мутацијом, боскалид готово да није испољио никакав ефекат, док су флуксапироксад и флуопирам у потпуности инхибирани клијање спора у концентрацији 30 mg/l. У тесту са лисним дисковима уочене су сличне правилности. Код изолата са I244V мутацијом забележена је нешто мања осетљивост према боскалиду и флуопираму у тесту клијавости спора, док је у тесту са лисним дисковима установљена висока резистентност према флуопираму (EC₅₀ > 30 mg/l) и умерена резистентност према боскалиду (EC₅₀ 4,29 mg/l), док је флуксапироксад испољио знатно боље деловање. Изолати са G169D мутацијом били су у потпуности резистентни на боскалид, а флуксапироксад и

флуопирам су једва утицали на 50% инхибиције на концентрацији 30 mg/l у тесту клијавости спора, а сличан тренд је забележен и у тесту са лисним дисковима. Изолати са G169S мутацијом потпуно су инхибирани флуксапироксадом (1 mg/l), док су боскалид и флуопирам испољили потпуно инхибицију при концентрацији 10 mg/l у тесту клијавости спора. У тесту са лисним дисковима EC₅₀ вредности за боскалид и флуопирам биле су > 30 mg/l. Код осетљивих популација *E. necator* у тесту клијавости спора просечне EC₅₀ вредности за боскалид, флуксапироксад и флуопирам биле су 0,53, 0,33 и 0,82 mg/l. У тесту са лисним дисковима EC₅₀ вредности кретале су се на следећи начин: 0,3 до 0,81 mg/l за боскалид, < 0,3 mg/l за флуксапироксад и 0,3 до 1,6 mg/l за флуопирам.

2.7.4 Резистентност *E. necator* на арил-фенил кетоне

Арил-фенил кетони припадају новој генерацији фунгицида и искључиво се користе за сузбијање проузроковача пепелница. У оквиру ове групе данас се користе два фунгицида – метрафенон (дозвољен за употребу у Европској Унији од 2007. године) и пириофенон (званично у употреби од 2014. у ЕУ). До сада, њихов механизам није у потпуности разјашњен, али се зна да делују у процесу деобе ћелија, односно ометају функцију актина, услед чега долази до поремећаја у грађи цитоскелета (**Kunova et al., 2021**). Неколико година од увођења у примену, детектована је резистентност код популација *B. graminis* f. sp. *tritici* (**Felsenstein et al., 2010**), а затим је потврђена и код популација *P. xanthii* (**Miyamoto et al., 2020**) и *E. necator* (**Kunova et al., 2016**). Резистентни изолати *E. necator* присутни су у неколико држава Европе, са прилично нехомогеном дистрибуцијом. Највећа фреквенција резистентних изолата од 2014. до 2016. године забележена је у Словачкој (52-64%), Чешкој (38%), Мађарској (15-88%), Италији (15-24%) и Аустрији (10-37%). Код узорака из Француске, Грчке, Шпаније, Португала и Словеније није утврђена резистентност (**Graf, 2017**).

За сада, није пронађен потенцијални механизам резистентности *E. necator* на арил-фенил кетоне. Било је покушаја да се утврди да ли постоји потенцијална мутација у геному која би била одговорна за настанак резистентности, и то секвенционирањем комплетног генома. Комплетним секвенционирањем генома, као потенцијално место мутација означен је ген који кодира о-ацилтрансферазу. Међутим поређењем осетљивих и резистентних изолата нису утврђене разлике и закључено је да мутације на овом гену ипак нису одговорне за резистентност проузроковача пепелнице винове лозе на арил-фенил кетоне (**Graf, 2017**). Обзиром да није детектована мутација која би потврдила резистентност *E. necator* на арил-фенил кетоне, за сада је спровођење биотеста (тест са лисним дисковима) једина поуздана лабораторијска метода за испитивање осетљивости популација на ове фунгице. У истраживању **Kunova et al. (2016)** установљена је резистентност изолата *E. necator* пореклом из северне Италије на арил-фенил кетоне. Од 13 тестираних изолата, два су била нормално осетљива, док су остали испољили умерену до високу резистентност. У истраживању је коришћена препоручена концентрација метрафенона и пириофенона у пољу (125 и 90 mg/l) и 10 пута већа концентрација метрафенона (1250 mg/l). Код већине изолата утврђено је да, осим што су нормално расли при препорученој концентрацији метрафенона, чак и при 10 пута већој концентрацији није било разлике у порасту између контролних дискова и дискова третираних метрафеноном. Такође, утврђена је и укрштена резистентност између метрафенона и пириофенона. У докторској дисертацији (**Graf, 2017**) просечне EC₅₀ вредности у тесту са лисним дисковима за осетљиве популације на

метрафенон биле су < 1,9 mg/l, док су код резистентних популација биле > 30 mg/l. Осим тога утврђено је да метрафенон не инхибира клијање спора (и код осетљивих и код резистентних популација) па се ова метода не може користити за утврђивање осетљивости изолата *E. necator* према арил-фенил кетонима.

2.7.5 Резистентност *E. necator* на азанафталене

Као и претходна група фунгицида и азанафталени у свом спектру деловања обухватају искључиво гљиве из фамилије *Erysiphaceae*. Овој групи припадају два једињења - квиноксифен и проквиназид. Данас је у употреби искључиво проквиназид (одобрен на нивоу ЕУ 2010. године), док је квиноксифен повучен из употребе у марту 2020. године услед проблема са високом биоакумулацијом и продуженом перзистентношћу (**Kunova et al., 2021**). До сада није утврђен егзактан механизам деловања азанафталена, али оно што је до сада познато јесте да они ометају трансдукцију сигнала (сметње у преносу сигнала) и интерферирају у развоју апресорија и диференцијацији спора (**Lee et al., 2008**).

Тачан механизам резистентности код гљива према азанафталенима није откривен, а резултати истраживања у доступној литератури су прилично хетерогени. За детекцију резистентности *E. necator* на азанафталене, данас се користе искључиво *in vivo* методе (тест са лисним дисковима и тест са целим биљкама) (**Green and Gustafson, 2006; Genet and Jaworska, 2009**). Први подаци о резистентности патогена на азанафталене датирају још с краја 20. века, када су детектовани мање осетљиви изолати *B. graminis* (**Hollomon et al., 1997; Wheeler et al., 2003**). **Green and Duriatti (2005)** су установили нормалну осетљивост изолата *E. necator* на квиноксифен, која се кретала од 0,008 до 2,6 mg/l. Резистентност *E. necator* на квиноксифен забележена је у истраживању **Green and Gustafson (2006)**, где су поједини изолати расли на концентрацијама већим од 30 mg/l. Затим су **Genet and Jaworska (2009)** утврдили постојање јако резистентних изолата на квиноксифен ($EC_{50} > 100$ mg/l) а у истом истраживању, детерминисане су и вредности за нормално осетљиве популације на проквиназид где се EC_{50} кретала од 0,0009 до 0,25 mg/l, а код највећег броја изолата (> 85%) EC_{50} вредности биле су < 0,03 mg/l. Изолати резистентни на квиноксифен тестирани су и на проквиназид и утврђено је да постоји укрштена резистентност између ова два фунгицида. У истраживању **Colcol and Baudoin (2016)** детектована је резистентност код изолата *E. necator* пореклом из винограда у којима је главна компонента редовне заштите био квиноксифен. Раст патогена и клијање спора је забележено и на високим концентрацијама квиноксифена (> 100 µg/ml). У Европи је у периоду од 2013. до 2017. забележено присуство „високо адаптираних“ изолата на квиноксифен и проквиназид у Италији, Француској, Немачкој Шпанији, Аустрији, Мађарској и Португалу (**FRAC, 2018**). Пре 2013. године и квиноксифен и проквиназид су испољавали високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе у препорученим количинама примене у Европи. **Feng et al. (2018)** су истраживали развој резистентности *E. necator* на квиноксифен у Вирџинији (САД). У пољским огледима примећена је висока ефикасност квиноксифена на гроздовима, и нижа, али задовољавајућа ефикасност на листовима. Међутим, у лабораторијским тестовима са лисним дисковима, где је испитивана осетљивост популације, констатовано је присуство резистентних изолата ($EC_{50} > 30$ mg/l). Током 2014. године утврђено је укупно 65% резистентних изолата на испитиваном локалитету, а 2016. године забележен је пад у проценту резистентних изолата (са 65 на 46%) и то у винограду где две године узастопно није примењен квиноксифен. Аутори наводе да је потпуно нејасно како квиноксифен обезбеђује добру заштиту винове лозе у пољу, а да је истовремено на тим истим

локалитетима где су спроведени огледи потврђено присуство резистентних изолата путем биотестова са лисним дисковима.

Табела 2. Преглед најважнијих фунгицида који се користе у сузбијању *E. necator* и подаци о резистентности

Назив групе (FRAC код)	Једињење	Механизам деловања	Механизам резистентности	Методe за детекцију	Референца
QoI фунгициди (11)	Крезоксим-метил Пиракlostробин Трифлoксистробин	Инхибиција убикинол-оксидазе у комплексу III дусања	G143A мутација у оквиру цитохром b гена	1) q-PCR (ARMS и TaqMAN); 2) тест са лисним дисковима	Baudoin et al. (2008); Dufour et al. (2011); Miles et al. (2012); Colcol and Baudoin (2016)
SDHI фунгициди (7)	Боскалид Флуксапироксад Флуопирам	Инхибиција сукцинат-деhidрогеназе у комплексу II дусања	1) мутације у оквиру SdhB подјединице – H242R, I244V 2) мутације у оквиру SdhC подјединице – G169D/S	1) PCR; 2) тест са лисним дисковима и тест клијавости спора	Cherrad et al. (2018); Graf (2017)
Динитрофенил кротонати (29)	Мептил-динокап	Анкаплери оксидативне фосфорилације	Непознат	Нема података	Нема података
DMI фунгициди – класа I (триазоли) (3)	Дифеноконазол Тебуконазол Пенконазол Миклобутанил	Инхибиција C-14 деметилације у биосинтези ергостерола	1) мутација Y136F у оквиру <i>sup51</i> гена 2) мутација A1119C која доводи до прекомерне експресије <i>sup51</i> гена	1) PCR, q-PCR; 2) тест са лисним дисковима	Dufour et al. (2011); Colcol et al. (2012); Frenkel et al. (2015); Rallos and Baudoin (2016); Pintye et al. (2020)
DMI фунгициди – класа II (спирокетал-амини) (5)	Спироксамин	Инхибиција Δ_{14} редуктазе, односно Δ_7 – Δ_8 изомераза	Непознат	Тест са лисним дисковима	Miller and Gubler (2004)
Арил-фенил кетони (50)	Метрафенон Пириофенон	Ремећење функције актина, миозина и фимбрина	Непознат	Тест са лисним дисковима	Kunova et al. (2016); Graf (2017)
Азанафталени (13)	Квиноксифен Проквиназид	Ометање трансдукције сигнала	Непознат	Тест са лисним дисковима	Green and Gustafson (2006); Jenet and Jaworska (2009); Colcol and Baudoin (2016); Feng et al. (2018)
Фенил-ацетамиди (U06)	Цифлуфенамид	Непознат	Непознат	Нема података	Нема података
Неоргански фунгициди	Сумпор	Multi-site	Нема података	Нема података	Нема података

3. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

Проузроковач пепелнице винове лозе, гљива *Erysiphe necator*, представља једног од најзначајнијих патогена винове лозе, како у свету, тако и у нашој земљи. С обзиром на то да подаци и резултати везани за проучавања осетљивости популација овог патогена у Србији готово и да не постоје, или датирају с почетка 21. века, сваки нови резултат може бити од изузетног значаја. Основни циљеви ове дисертације били су оријентисани ка испитивању осетљивости популација *E. necator* у Србији на фунгициде из различитих група применом класичних и молекуларних метода. Циљеви су усмерени првенствено ка извођењу *in vivo* биотестова, *real-time* PCR идентификацији и карактеризацији резистентности популација овог патогена и то на фунгициде из групе стробилурина (QoI фунгициде), чиме би се потврдила мутација на циљаној позицији (G143A) карактеристична за резистентне популације. Осим детекције резистентности на QoI фунгициде, један од циљева био је да се комбинацијом биотестова и молекуларних метода детектује и резистентност на DMI фунгициде. У истраживање, поред претходно наведених група, укључене су групе фунгицида које се данас интензивно користе у стандардним програмима заштите винове лозе од *E. necator*, па је један од циљева био да се утврди има ли промена у осетљивости популација овог паразита на неке од активних супстанци које припадају релативно новијим групама фунгицида (арил-фенил кетонима, азнафталиенима, SDHI фунгицидима).

Узимајући у обзир да је у условима практичне примене приметно смањење ефикасности одређених фунгицида у сузбијању *E. necator*, испитивања ефикасности фунгицида различитих механизма деловања, треба да дају одговор који фунгициди могу, а који не би требали да буду позиционирани у будућим програмима заштите винове лозе. Додатно, резултати компаративне ефикасности дају и прелиминаран увид да ли је дошло до практичног развоја резистентности и да ли постоји и ризик од развоја унакрсне резистентности у оквиру појединих група, с обзиром на то да су у огледе у пољу 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. То је подразумевало одабир високо ефикасних фунгицида и њихово адекватно позиционирање у програмима заштите винове лозе. С друге стране, један од циљева обухватао је и економски аспект у смислу редуковања броја третирања и употребе економичнијих фунгицида са циљем што ефикаснијег сузбијања проузроковача пепелнице.

Имајући у виду да новији подаци о стању осетљивости популација *E. necator* у Србији недостају, резултати ове дисертације даће допринос како у научном смислу, у погледу утврђивања осетљивости популација на различите фунгициде и идентификацију резистентних популација применом класичних и молекуларних метода, тако и са практичног аспекта, јер ће пружити основ за унапређење заштите винове лозе и омогућити креирање адекватних програма заштите који ће у потпуности бити у складу са принципима антрирезистентне стратегије. С обзиром на то да је један од кључних циљева дисертације био утврђивање резистентности популација *E. necator* на QoI фунгициде, мониторинг и квантификација резистентности могу дати одговоре да ли је у одређеним популацијама дошло до мутација у оквиру цитохром *b* гена на позицији 143, и у којем проценту је распрострањена та резистентност у самој популацији, али и на нивоу Србије. Исти циљ је постављен и за DMI фунгициде, који су дуго у употреби у Србији, па је било врло значајно испитати да ли је и колико заступљена резистентност на нивоу наше земље.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

4.1. Огледи у пољу

4.1.1 Испитивање компаративне ефикасности фунгицида у сузбијању *E. necator*

Испитивање ефикасности различитих фунгицида у сузбијању *E. necator* вршено је у периоду од 2019. до 2023. године на четири локалитета у Србији (Табела 3). Огледи су постављени у складу са ЕРРО/ОЕРР методом РР 1/4(4) (ЕРРО/ОЕРР, 2002) и то у једном експерименталном и три комерцијална винограда. Сви третмани изведени су у четири понављања, а као експериментални план коришћен је потпуно случајни блок систем. Величина огледне парцеле била је 8-10 чокота, у зависности од локалитета на којем је оглед постављен.

Табела 3. Подаци о огледима

Локалитет	Радмиловац (Пољопривредни факултет)	Топола (Краљева винарија)	Сланкаменачки Виногради (Ипђија)	Нештин (Бачка Паланка)
Регион	Београд	Шумадија	Срем - Војводина	Срем – Војводина
GPS координате и надморска висина	N: 44.75700 E: 20.58397 142 метра	N: 44.24252; E: 20.68813 251 метар	N: 45.15483; E: 20.19597; 164 метра	N: 45.19588 E: 19.45895 138 метара
Тип винограда	Експериментални	Комерцијални	Комерцијални	Комерцијални
Сорта	Chardonnay	Chardonnay	Chardonnay	Frankovka
Старост	18-20 година	8-13 година	7-10 година	8-12 година
Величина огледне парцеле	10 чокота	10 чокота	8 чокота	8 чокота

У студијама компаративне ефикасности, коришћене су комерцијално доступне формулације фунгицида из различитих група: QoI фунгициди (крезоксим-метил, трифлористробин и пираклостробин), DMI фунгициди (дифеноконазол, тебуконазол, миклбутанил, 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 (Табела 4). На локалитету Топола и Сланкаменачки Виногради испитивања компаративне ефикасности вршена су од 2019. до 2023. године, на локалитету Нештин од 2020. до 2023. године, док су на локалитету Радмиловац испитивања вршена од 2019. до 2021. године. Преглед испитиваних варијанти по локалитетима дат је у Табели 5.

Табела 4. Преглед фунгицида коришћених у испитивањима

Назив препарата	Тип формулације	Активна супстанца	Произвођач	Конц. (%)	Назив групе (FRAC)
Vivando®	SC	Метрафенон (500 g/l)	BASF	0,02	Арил-фенил кетони (B6; 50)
Kusabi®	SC	Пириофенон (300 g/l)	Belchim Crop Protection	0,03	
Lunar®	SC	Крезоксим-метил (500 g/l)	Галеника – Фитофармација а.д.	0,02 и 0,03	QoI фунгициди (C3; 11)
Zato® 50-WG	WG	Трифлуксистробин (500 g/kg)	Bayer AG	0,015	
Cabrio® Top	WG	Пиракlostробин (50 g/kg) (+ метирам)	BASF	0,2	
Crystal™ 250 SC	SC	Квиноксифен (250 g/l)	Dow AgroSciences (Corteva Agriscience)	0,02	Азанафталени (E1; 13)
Talendo®	EC	Проквиназид (200 g/l)	DuPont (Corteva Agriscience)	0,025	
Sekvenca®	EC	Дифеноконазол (250 g/l)	Галеника – Фитофармација а.д.	0,013; 0,02 и 0,025	DMI фунгициди (G1; 3)
Foton®	EC	Миклобутанил (240 g/l)	Галеника - Фитофармација а.д.	0,015	
Folicur® 250 EW	EW	Тебуконазол (250 g/l)	Bayer AG	0,04; 0,06 и 0,075	
Topas® 100 EC	EC	Пенконазол (100 g/l)	Syngenta	0,025	
Revyona®	SC	Мефентрифлуконазол (75 g/l)	BASF	0,13	
Spirox®	EC	Спироксамин (500 g/l)	Arysta Life Science	0,06	
Strix	EC	Спироксамин (500 g/l)	Галеника – Фитофармација а.д.	0,06 и 0,08	Амини-спирокетал- амини (G2; 5)
Cantus®	WG	Боскалид (500 g/kg)	BASF	0,12	SDHI фунгициди (C2; 7)
Sercadis®	SC	Флуксапироксад (300 g/l)	BASF	0,015	
Insajder	SC	Флуопирам (500 g/l)	Галеника – Фитофармација а.д.	0,05	
Cyflamid 5 EW®	EW	Цифлуфенамид (50 g/l)	Nisso Chemical	0,05	Фенил-ацетамиди (U, 06)
Karathane™ Gold 350 EC	EC	Мептил-динокап (350 g/l)	Dow AgroSciences (Corteva Agriscience)	0,05	Динитрофенил кротонати (C5; 29)

Kumulus® DF	WG	Сумпор (800 g/kg)	BASF	0,5 и 0,7	Неорганска једињења-сумпор (M 02)
Flosul®	SC	Сумпор (800 g/l)	Belchim Crop Protection	0,7	Неорганска једињења-сумпор (M 02)
Luna® Max	SE	Флуопирам + спирокарбамид (75 + 200 g/l)	Bayer AG	0,1	SDHI фунгициди (C2; 7) Амини-спирокарбамиди (G2; 5)
Cidely® Top	EC	Дифеноконазол + Цифлуфенамид (125 + 15 g/l)	Syngenta	0,1	DMI фунгициди (G1; 3) Фенил-ацетамиди (U, 06)

Табела 5. Преглед испитиваних варијанти по локалитетима

Варијанта	Година испитивања				
	2019.	2020.	2021.	2022.	2023.
Контрола	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин
Vivando®	Радмиловац Топола Сл. Виногради	Радмиловац Топола Сл. Виногради	Сл. Виногради	/	/
Kusabi®	Радмиловац Топола Сл. Виногради	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Сл. Виногради Нештин	Нештин	/
Lunar®	Радмиловац Топола Сл. Виногради	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Топола Сл. Виногради Нештин	Нештин	/
Zato® 50-WG	Радмиловац Топола	Радмиловац Топола	/	/	/

	Сл. Виногради	Сл. Виногради			
Cabrio® Top	/	Топола Сл. Виногради	/	/	/
Crystal™ 250 SC	Радмиловац Топола Сл. Виногради	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Нештин	/	/
Talendo®	Радмиловац Топола Сл. Виногради	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Топола Сл. Виногради Нештин	/
Sekvenca®	Радмиловац Топола Сл. Виногради	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Топола Нештин	Топола Сл. Виногради
Foton®	Радмиловац Топола Сл. Виногради	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Топола Сл. Виногради Нештин	/	/
Folicur® 250 EW	/	Топола Сл. Виногради	Топола Сл. Виногради	Топола	/
Topas® 100 EC	/	/	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Топола Нештин	/
Revyona®	/	/	/	/	Топола Нештин
Spirox®	Радмиловац Топола Сл. Виногради	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	/	/	/
Strix	/	/	Радмиловац Топола Сл. Виногради Нештин	Топола Нештин	Топола Нештин

Cantus®	Радмиловац	Радмиловац	Сл. Виногради	/	/
	Топола	Топола			
Sercadis®	Сл. Виногради	Сл. Виногради	Радмиловац Топола	Нештин	Нештин Топола
	Радмиловац	Радмиловац			
	Топола	Топола			
Insajder	Сл. Виногради	Сл. Виногради	Сл. Виногради	Топола	Сл. Виногради
	Нештин	Нештин	Нештин	Нештин	Топола
Cyflamid 5 EW®	/	/	/	/	Сл. Виногради
	Радмиловац	Радмиловац	Топола	Нештин	/
	Топола	Топола	Сл. Виногради		
Сл. Виногради	Сл. Виногради	Нештин	Нештин		
Karathane™ Gold 350 EC	/	Топола	/	/	/
		Сл. Виногради			
Kumulus® DF	Радмиловац	Радмиловац	Радмиловац	Топола	/
	Топола	Топола	Топола	Нештин	
	Сл. Виногради	Сл. Виногради	Сл. Виногради		
	Нештин	Нештин	Нештин	Нештин	
Flosul®	/	/	/	/	Топола
					Сл. Виногради
Luna® Max	/	Радмиловац	Радмиловац	Топола	Топола
		Топола	Топола	Нештин	Сл. Виногради
		Сл. Виногради	Сл. Виногради		Нештин
	Нештин	Нештин	Нештин		Нештин
Cidely® Top	/	/	Топола	Топола	Сл. Виногради
			Сл. Виногради	Нештин	
			Нештин		

4.1.1.1 Апликација фунгицида

Апликација фунгицида изведена је употребом леђне прскалице типа *Solo 425* уз утрошак течности од 800 l/ha. Годишње је укупно изведено 6-8 третирања, почевши од фенофазе 4-6 развијених листова (ВВСН 14-16) до фенофазе затварања гроздова-почетак зрења (ВВСН 79-81) (Lorenz et al, 1995). Интервал између два третирања кретао се од 10 до 14 дана (Табела 6).

Заштита од проузроковача пламењаче (*P. viticola*) извођена је редовно фунгицидима који не утичу на развој *E. necator*: Асробат® MZ (диметоморф 90 g/kg + манкозоб 600 g/kg, BASF), Ridomil Gold® MZ 68 WG (металаксил-М 40 g/kg + манкозоб 640 g/kg, Syngenta), Ridomil Gold® Combi 45 WG (металаксил-М 50 g/kg + фолпет 400 g/kg, Syngenta), Mildicut (цијазофамид 25 g/l + динатријум фосфонат 250 g/l, Belchim), Zorvec™ Vinabel® (зоксамид 300 g/l + оксатиапирполин 40 g/l, Corteva), Mikal Flash® (фосетил-алуминијум 500 g/kg + фолпет 250 g/kg) и Amaline Flow® (зоксамид 40 g/l + бакар из тробазног бакар сулфата 267 g/l), у препорученим дозама (концентрацијама) примене. За заштиту од *B. cinerea* коришћени су следећи фунгициди у препорученим дозама (концентрацијама) примене: Pehar® (пириметанил 400 g/l, Galenika Fitofarmacija), Flux® (флудиоксонил 225 g/l, Galenika Fitofarmacija), Zenby® (изофетамид 400 g/l, Belchim) и Teldor® 500-SC (фенхексамид 500 g/l, Bayer Crop Protection).

4.1.1.2 Посматрана обележја и начин оцене

Праћена је појава симптома и оцењен интензитет обољења у време када је примећена јасна разлика у појави симптома између третираних и контролих (нетретираних) парцела. Током сваке експерименталне сезоне, спроведено је укупно по две оцене на гроздовима и једна оцена на листовима. Укупно је по сваком понављању оцењено по 50 гроздова и 100 листова који су насумично одабрани. Оцена је изведена тако што је процењена процентуална захваћеност гроздова и листова симптомима обољења. Гроздови и листови који су пажљиво визуелно прегледани, коришћењем скале, у односу на степен захваћености, рангирани су по следећим категоријама: 0 = нема симптома; 1= 0,1-2,5%; 2= 2,51-5%; 3= 5,1-10%; 4= 10,1-25%; 5= 25,1-50%; 6= 50,1-75%; 7= > 75-100% (Sozzani et al., 2008). Интензитет обољења израчунат је према Townsend-Heuberger-овој формули (Townsend Heuberger, 1943):

$$DS = \frac{\sum(nv)}{NV} \times 100$$

Где је: DS - интензитет обољења (%); n- број листова (гроздова) по категорији; v - вредност категорије; N - укупан број оцењених листова (гроздова); V - највећа вредност категорије.

Учесталост појаве симптома обољења на гроздовима израчуната је на следећи начин:

$$DI = \frac{I}{N} \times 100$$

Где је: DI - учесталост (%); I - укупан број заражених гроздова; N - укупан број оцењених гроздова.

Ефикасност фунгицида израчуната је према формули Abbott-a (Abbott, 1925):

$$Ef (\%) = \frac{X-Y}{X} \times 100$$

Где је: Ef (%) - ефикасност фунгицида; X - интензитет обољења у контроли; Y - интензитет обољења у третману.

Метеоролошки подаци добијени су са метео станица Field Climate и Meteos, и прикупљени су за сваку експерименталну сезону.

4.1.1.3 Статистичка обрада података

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% ($P=0.05$).

Табела 6. Датуми апликације фунгицида

Локалитет	Датуми апликације (ВВСН)				
	2019.	2020.	2021.	2022.	2023.
Радмиловац	22/04 (15);	05/05 (15)	07/05 (53);	Оглед није изведен	Оглед није изведен
	04/05 (53);	18/05 (53)	19/05 (55);		
	18/05 (55);	28/05 (55)	02/06 (62);		
	30/05 (62);	10/06 (63)	14/06 (71);		
	12/06 (71);	25/06 (71)	29/06 (75);		
	25/06 (75);	12/07 (75)	10/07 (77);		
	07/07 (77);	27/07 (77)	24/07 (79)		
	22/07 (79)	11/08 (79)			
Топола	22/04 (15);	24/04 (16);	18/05 (16)	11/05 (16)	28/04 (15)
	04/05 (53);	07/05 (53);	28/05 (55)	20/05 (55)	13/05 (53)
	18/05 (55);	19/05 (55);	10/06 (65)	02/06 (65)	24/05 (55)
	31/05 (62);	02/06 (63);	24/06 (71)	17/06 (73-75)	02/06 (57-61)
	13/06 (71);	13/06 (71);	08/07 (75)	30/06 (75-77)	09/06 (63)
	27/06 (75);	28/06 (75);	22/07 (77)	11/07 (77-79)	18/06 (69-71)
	08/07 (77);	09/07 (77);	05/08 (79)	25/07 (79-81)	30/06 (75)
	23/07 (79)	23/07 (79)			13/07 (77-79)
Сланкаменачки Виногради	14/04 (14);	22/04 (16);	14/05 (16)	Оглед није изведен	26/04 (15)
	25/04 (18);	05/05 (53);	27/05 (55)		10/05 (53)
	07/05 (53);	16/05 (55);	08/06 (65)		23/05 (55)
	21/05 (55);	28/05 (63);	22/06 (71)		30/06 (57-61)
	06/06 (65);	10/06 (71);	06/07 (75)		08/06 (65)
	21/06 (73);	24/06 (75);	18/07 (77)		19/06 (73-75)
	01/07 (75);	08/07 (77);	01/08 (79-81)		03/07 (77)
	15/07 (77)	22/07 (79)			17/07 (79)
Нештин	Оглед није изведен	22/04 (14);	13/05 (16);	13/05 (15)	27/04 (15)
		05/05 (53);	27/05 (55);	25/05 (55)	10/05 (53)
		16/05 (55);	08/06 (62);	06/06 (68-69)	23/05 (55)
		29/05 (62);	21/06 (71);	18/06 (75)	01/06 (57-60)
		11/06 (69);	06/07 (75);	29/06 (77)	14/06 (63-64)
		25/06 (73);		12/07 (79)	27/06 (71-73)

08/07 (75);	20/07 (77);	11/07 (75)
21/07 (77)	06/08 (79)	

4.1.2 Испитивање ефикасности различитих модела (програма) заштите винове лозе од проузроковача пепелнице (*E. necator*)

У периоду од 2020. до 2022. године вршена су испитивања различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице. Испитивање ефикасности модела имало је за циљ да, с једне стране, обезбеди потенцијално економичнију заштиту и смањи број третирања, и с друге стране, унапреди програме заштите винове лозе од овог патогена. Огледи су изведени на локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради (2020. и 2021. године), и Нештин (2021. и 2022. године), по типу потпуно случајног блок система у четири понављања. Апликација фунгицида изведена је употребом леђне прскалице типа Solo 425, уз утрошак течности од 800 l/ha. Заштита од *P. viticola* и *B. cinerea* вршена је редовно фунгицидима који не утичу на развој *E. necator*.

Праћена је појава симптома и оцењен интензитет обољења у време када је примећена јасна разлика у појави симптома између третираних и контролих парцела. У свакој експерименталној години, изведено је укупно по две оцене на гроздовима и једна оцена на листовима. Интензитет обољења оцењен је на 50 гроздова и 100 листова по сваком понављању. Оцена је изведена тако што је процењена процентуална захваћеност гроздова и листова симптомима обољења. Гроздови и листови на основу степена захваћености, сврставани су у следеће категорије: 0 = нема симптома; 1= 0,1-2,5%; 2= 2,51-5%; 3= 5,1-10%; 4= 10,1-25%; 5= 25,1-50%; 6= 50,1-75%; 7= > 75-100% (Sozzani et al., 2008). Интензитет обољења израчунат је према Townsend-Heuberger-овој формули (Townsend Heuberger, 1943), а ефикасност фунгицида израчуната је према формули Abbott-a (Abbott, 1925).

Метеоролошки подаци добијени су са метео станица Field Climate и Meteos, и прикупљени су за сваку експерименталну сезону.

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% ($P=0.05$).

4.1.2.1. Модели заштите

На локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради, 2020. године креирани су модели заштите са фунгицидима који су се претходно одликовали високом ефикасношћу током прве године истраживања компаративне ефикасности на поменути локалитетима (Табела 7). Током 2021. године, на локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради, испитивани су исти модели заштите, али са нешто другачијим избором и распоредом фунгицида на оба локалитета (Табела 8). На локалитету Топола, у другом третирању у односу на 2020. годину, уместо препарата Karathane Gold уврштен је препарат Spirox, док је на локалитету Сланкаменачки Виногради уместо препарата Karathane Gold уврштен препарат Vivando. У модел је укључен и препарат Talendo, на оба локалитета. Додатно, испитиван је још један модел (Модел 6) где је, на оба локалитета, у претпоследњем и последњем третирању, примењен препарат Kumulus DF.

На локалитету Нештин током 2021. године испитивани су исти модели као на претходна два локалитета, с тим да је распоред и одабир фунгицида био нешто другачији

(Табела 9). Фунгициди су одабрани на основу резултата огледа компаративне ефикасности из претходне, 2020. године. Исти модели заштите испитивани су и током 2022. године на овом локалитету, с тим да су поред стандардне контроле (Контрола 1) где третирања нису извођена од почетка па до краја огледа, у оглед уврштене и две додатне контроле. У једној контроли (Контрола 2) испитиван је утицај блока од четири третирања (од фенофазе набубреле цвасти до бобице величине зрна грашка) и у тој контроли нису извођена третирања у том периоду, док су тзв. „cover“ третирања извођена пре и након тог периода (Табела 10). У другој додатној контроли (Контрола 3) нису извођена третирања до прецветавања, већ се са програмом заштите кренуло од фенофазе прецветавања па до фенофазе затварања гроздова-почетак шарка, како би се утврдио значај и ефекат третирања до прецветавања (од фенофазе 4-6 отворених листова до прецветавања).

Табела 7. Преглед испитиваних модела на локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради током 2020. године

Бр.	Третирања									
	Код		A	B	C	D	E	F	G	H
	Датум	Топола	24/04	07/05	19/05	02/06	13/06	28/06	09/07	23/07
		Сл. Виногради	22/04	05/05	16/05	28/05	10/06	24/06	08/07	22/07
Фенофаза (ВВСН)		14-16	55	57	63-65	69-71	75	77	79	
Варијанта										
1.	Контрола		-	-	-	-	-	-	-	-
2.	Модел 1		-	-	Sercadis	Sekvenca	Luna Max	Cyflamid 5 EW	-	-
3.	Модел 2		-	Karathane Gold 350 EC	Sercadis	Sekvenca	Luna Max	Cyflamid 5 EW	-	-
4.	Модел 3		Kumulus DF	Karathane Gold 350 EC	Sercadis	Sekvenca	Luna Max	Cyflamid 5 EW	-	-
5.	Модел 4		Kumulus DF	Karathane Gold 350 EC	Sercadis	Sekvenca	Luna Max	Cyflamid 5 EW	Sercadis	-
6.	Модел 5		Kumulus DF	Karathane Gold 350 EC	Sercadis	Sekvenca	Luna Max	Cyflamid 5 EW	Sercadis	Kumulus DF
7.	Стандардни програм заштите		Sercadis + Kumulus DF	Sercadis	Sekvenca + Kumulus DF	Sekvenca	Talendo + Kumulus	Spirox	Luna Max + Kumulus DF	Kumulus DF

*Sercadis – 0,015%; Sekvenca – 0,013%; Luna Max – 0,1%; Cyflamid 5 EW – 0,05%; Karathane Gold 350 EC – 0,05%;

Kumulus DF– 0,5%; Talendo – 0,025%; Spirox – 0,06%

Табела 8. Преглед испитиваних модела на локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради током 2021. године

Бр.	Третирања									
	Код		A	B	C	D	E	F	G	H
	Датум	Топола	06/05	18/05	28/05	10/06	24/06	08/07	22/07	05/08
		Сл. Виногради	04/05	14/05	27/05	08/06	22/06	06/07	18/07	01/08
Фенофаза (ВВСН)		14-16	55	57	63-65	69-71	75	77	79	
Варијанта										
1.	Контрола		-	-	-	-	-	-	-	-
2.	Модел 1		-	-	Sercadis	Sekvenca	Luna Max	Cyflamid 5 EW	-	-
3.	Модел 2		-	Spirox (ТО)	Sercadis	Sekvenca	Luna Max	Cyflamid 5 EW	-	-
				Vivando (СЛВ)						
4.	Модел 3		Kumuluf DF	Spirox (ТО)	Sercadis	Sekvenca	Luna Max	Cyflamid 5 EW	-	-
				Vivando (СЛВ)						
5.	Модел 4		Kumuluf DF	Spirox (ТО)	Sercadis	Sekvenca	Luna Max	Cyflamid 5 EW	Talendo	-
				Vivando (СЛВ)						
6.	Модел 5		Kumuluf DF	Spirox (ТО)	Sercadis	Sekvenca	Luna Max	Cyflamid 5 EW	Talendo	Kumuluf DF
				Vivando (СЛВ)						
7.	Модел 6		Kumuluf DF	Spirox (ТО)	Sercadis	Sekvenca	Luna Max	Cyflamid 5 EW	Kumuluf DF	Kumuluf DF
				Vivando (СЛВ)						
8.	Стандардни програм заштите		Sercadis + Kumuluf DF	Sercadis	Sekvenca + Kumuluf DF	Sekvenca	Talendo + Kumuluf	Spirox	Luna Max + Kumuluf DF	Kumuluf DF

*Sercadis-0,015%; Sekvenca-0,02%; Luna Max-0,1%; Cyflamid-0,05%; Talendo-0,025%; Spirox-0,06%; Vivando-0,02%, Kumuluf-0,5%

Табела 9. Преглед испитиваних модела на локалитету Нештин (2021. година)

Бр.	Третирања								
	Код	A	B	C	D	E	F	G	H
	Датум	03/05	13/05	27/05	08/06	21/06	06/07	20/07	05/08
	Фенофаза (ВВСН)	14-16	55	57	63-65	69-71	75	77	79
Варијанта									
1.	Контрола	-	-	-	-	-	-	-	-
2.	Модел 1	-	-	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	-	-
3.	Модел 2	-	Spirox	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	-	-
4.	Модел 3	Kumulus DF	Spirox	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	-	-
5.	Модел 4	Kumulus DF	Spirox	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	Sekvenca	-
6.	Модел 5	Kumulus DF	Spirox	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	Sekvenca	Kumulus DF
7.	Модел 6	Kumulus DF	Spirox	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	Kumulus DF	Kumulus DF
8.	Стандардни програм заштите	Sercadis + Kumulus DF	Kusabi	Luna Max + Kumulus DF	Talendo	Cidely Top + Kumulus DF	Spirox	Sekvenca + Kumulus DF	Kumulus DF

*Kusabi-0,03%; Sercadis-0,015%; Luna Max-0,1%; Talendo-0,025%; Spirox-0,06%; Sekvenca-0,02%; Kumulus DF– 0,5%; Cidely Top - 0,1%

Табела 10. Преглед испитиваних модела на локалитету Нештин (2022. година)

Бр.	Третирања							
	Код	A	B	C	D	E	F	G
	Датум	13/05	26/05	06/06	18/06	29/06	12/07	26/07
	Фенофаза (ВВСН) Варијанта	14-16	57	65-66	69-71	75	77	79-81
1.	Контрола 1	-	-	-	-	-	-	-
2.	Контрола 2	Kumulus DF	-	-	-	-	Talendo	Kumulus DF
3.	Контрола 3	-	-	-	-	Luna Max	Talendo	Kumulus DF
4.	Модел 1	-	-	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	-
5.	Модел 2	-	Strix	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	-
6.	Модел 3	Kumulus DF	Strix	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	-
7.	Модел 4	Kumulus DF	Strix	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	Cidely Top
8.	Модел 5	Kumulus DF	Strix	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	Kumulus DF
9.	Модел 6	Kumulus DF	Kumulus DF	Kusabi	Sercadis	Luna Max	Talendo	Kumulus DF
10.	Стандардни програм заштите	Sercadis + Kumulus DF	Kusabi	Luna Max + Kumulus DF	Talendo	Cidely Top + Kumulus DF	Strix	Sekvenca + Kumulus DF

*Kusabi – 0,03%; Sercadis – 0,015%; Luna Max – 0,1%; Talendo – 0,025%; Strix – 0,08%; Cidely Top – 0,1%; Sekvenca – 0,02%;

Kumulus DF – 0,5%

4.1.2.2 Економска анализа модела заштите

Како би се утврдили трошкови испитиваних модела, анализиране су цене фунгицида који су коришћени за сузбијање проузроковача пепелнице, цена рада (дневница радника) и механизације (гориво). У обзир су узете просечне тржишне цене испитиваних фунгицида, просечна цена дневнице и горива (**Републички завод за статистику, 2023**), за сваку експерименталну годину (Табела 11).

Табела 11. Приказ тржишних цена фунгицида, цена сатнице и горива

Цене фунгицида						
Препарат (паковање)	Цена паковања (дин.)			Цена по хектару (дин.)		
	2020.	2021.	2022.	2020.	2021.	2022.
Sercadis (100 ml)	1900	1950	2090	2850	2925	3135
Luna Max (1L)	4090	4190	5450	4090	4190	5450
Kusabi (100 ml)	1090	1090	950	3270	3270	2850
Vivando (100 ml)	1050	1100	1250	2100	2200	2500
Talendo (1 L)	8260	8360	9190	2065	2090	2298
Spirox (1 L)	2900	2900	2900	2320	2320	2320
Sekvenca (200 ml)	1090	1090	1090	1090	1090	1090
Cyflamid (1 L)	9250	9350	9850	4625	4675	4925
Karathane Gold (1 L)	3390	3390	3590	1695	1695	1795
Cidely Top (1 L)	7590	7690	7790	7590	7690	7790
Kumulus (1 kg)	299	310	380	1145	1550	1900
Цена сатнице трактористе (дин.)						
Сатница (дин.)			Цена по хектару (45min/ha)			
2020.	2021.	2022.	2020.	2021.	2022.	
400	450	500	300	337,5	375	
Цена горива (дин.)						
Просечна цена литра дизел горива			Цена по хектару (6 литара горива по хектару)			
2020.	2021.	2022.	2020.	2021.	2022.	
144,58	160,64	202,36	867,48	963,84	1214,16	

4.2. Прикупљање узорака и одржавање патогена

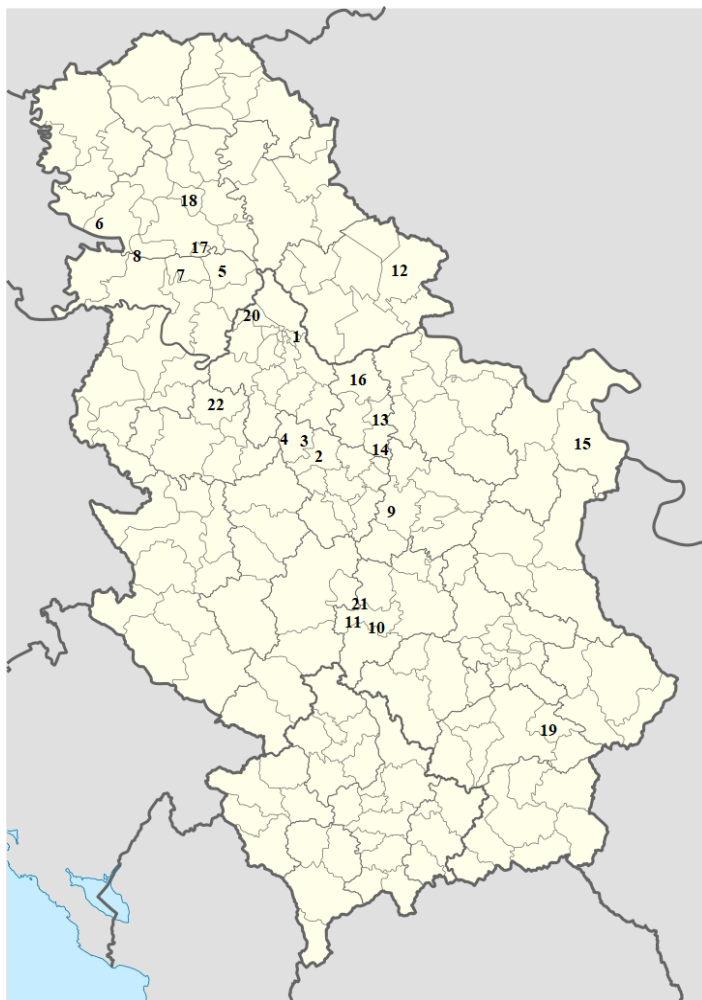
У периоду од 2019. до 2022. године, вршено је прикупљање заражених листова и бобица како би се утврдила осетљивост различитих популација *E. necator* на фунгициде у биотестовима, али и са циљем молекуларне детекције резистентности на QoI и DMI фунгициде код тих популација помоћу real-time PCR технике. Узорци су прикупљени из једног експерименталног и три комерцијална винограда где су изведени пољски огледи (Радмиловац, Топола, Сланкаменачки Виногради и Нештин). Са ових локалитета, заражени листови и гроздови, узорковани су како из третираних огледних парцела, тако и из контролних варијанти. Такође, вршено је прикупљање узорака и из неколико најзначајнијих виноградарских рејона, и то из винограда са дужом историјом примене фунгицида где је извођена редовна хемијска заштита од проузроковача пепелнице. Ово је урађено како би се

креирала шира слика о дистрибуцији резистентних/осетљивих популација у Србији. Осим винограда са историјом примене фунгицида, узорци су прикупљани и са три локалитета где фунгициди нису коришћени у прошлости и где се очекивало присуство нормално осетљивих популација, али и из винограда где је извођена екстензивна заштита, односно редукована примена фунгицида. Прикупљање зараженог биљног материјала обично је вршено од друге половине августа до краја септембра, када су симптоми пепелнице на листовима били најизраженији. Узорци су прикупљени из 22 различита винограда, у 10 виноградарских рејона у Србији, током 2019, 2020, 2021. и 2022. године (Слика 4).

Заражени листови су допремани у лабораторију у ручном преносивом фрижидеру у тзв. „ZIP“ кесама. Симптоматични листови су затим инкубирани 24 h у пластичним кутијама са повећаном влажношћу при собној температури (20-22 °C). Потом је заражено ткиво прегледано под бинокуларом, а конидије из спорулишућих колонија преношене су на младе листове биљака винове лозе, сорте Chardonnay, гајених у стаклари. Конидије су преношене на лице листа винове лозе помоћу fine четкице од камиље длаке, која је између сваког трансфера стерилисана 95% етанолом (Colcol., 2008; Kunova et al., 2015; Graf, 2017). Пре наношења конидија, листови су стерилисани потапањем у 20% раствор натријум-хипохлорита (варикине) у којем се налазио Tween 20 у трајању од 2 минута, а затим су остављени у ламинарној комори на парчету убруса да се осуше. Након сушења, листови, лицем окренутим на горе, постављени су на 1% аутоклавирани водени агар разливен у стерилне Петри шоље пречника 90 mm (Feng et al., 2018). Листови су инкубирани при температури 22-25 °C, у трајању 10-14 дана са светлосним режимом 12 сати светлост, 12 сати тама (Colcol, 2008; Graf, 2017). Колоније паразита одржаване су на свежим листовима до извођења биотестова и молекуларних анализа.

4.3. Утврђивање осетљивости популација *E. necator* на различите фунгициде у *in vivo* тестовима са лисним дисковима (биотестови са лисним дисковима)

За утврђивање осетљивости популација *E. necator* на различите фунгициде, коришћена је *in vivo* метода са лисним дисковима. Вршено је испитивање фунгицида из следећих група: QoI фунгициди (крезоксим-метил и трифлуксистробин); DMI фунгициди (миклобутанил, тебуконазол и дифеноконазол); азанафталени (квиноксифен и проквиназид); арил-фенил кетони (метрафенон и пириофенон). Комерцијалне формулације претходно наведених фунгицида дисперговане су у води како би се добиле одговарајуће концентрације неопходне за извођење биотеста. За сваки фунгицид коришћене су три концентрације: препоручена концентрација за комерцијалну примену, два и четири пута већа концентрација од препоручене (Табела 12). Ове три концентрације коришћене су како би се утврдило да ли је дошло до развоја практичне резистентности код популација *E. necator*. Код популација паразита које су сакупљене са локалитета где претходно нису коришћени фунгициди (тзв. „wild-type“ популације) тестирана је осетљивост на 5 концентрација и одређене су EC₅₀ вредности, коришћењем пробит анализе (Finney, 1964).



- 1 – Радмиловац (Београд)
- 2 – Топола (Шумадија)
- 3 – Брезовац (Шумадија)
- 4 – Аранђеловац (Шумадија)
- 5 – Сланкаменачки Виногради (Срем)
- 6 – Нештин (Срем)
- 7 – Ириг (Срем)
- 8 – Черевих (Срем)
- 9 – Јагодина (Поморавље)
- 10 – Александровац (Расина)
- 11 – Александровац (Расина)
- 12 – Вршац (Јужни Банат)
- 13 – Крњево (Подунавље)
- 14 – Велика Плана (Подунавље)
- 15 – Неготин (Бор)
- 16 – Смедерево (Подунавље)
- 17 – Сремски Карловци (Срем)
- 18 – Темерин (Јужна Бачка)
- 19 – Власотинце (Јабланица)
- 20 – Земун (Београд)
- 21 – Скачак (Расина)
- 22 – Совљак (Колубара)

Слика 4. Мапа локалитета са којих су прикупљени узорци листова винове лозе

Лисни дискови прављени су стерилним бушачем коришћењем младих, здравих (асимптоматских) и дезинфикованих листова осетљиве сорте Chardonnay. Лисни дискови су потапани у стерилну дестиловану воду (контрола) или у унапред припремљене фунгицидне дисперзије одговарајућих концентрација у трајању од 45 минута. Затим су у ламинарној комори, нежно, помоћу финог убруса осушени и стављани у Петри шоље испуњене воденим агаром, и то лицем окренутим на горе. У свакој Петри шољи налазило се 4 лисна диска третирана истом концентрацијом фунгицида (**Colcol and Baudoin, 2016; Feng et al., 2018**). За инокулацију лисних дискова, коришћени су листови са добро развијеном колонијом патогена. Конидије са листова су помоћу тзв. „инокулационог торња“ распршене по површини третираних и нетретираних лисних дискова (**Green and Gustafson, 2006; Colcol, 2008**). Инокулациони торањ је постављен изнад Петри шоља са лисним дисковима (**Graf, 2017**), и конидије су дистрибуиране на лисне дискове ваздушним струјањем. Лисни дискови су затим инкубирани при температури 22-25 ° С у трајању 10-14 дана, са фотопериодом 12 сати светлост, 12 сати тама. Након инкубације, визуелном оценом под бинокуларом, процењена је захваћена површина листова колонијом патогена (изражена у %), и вршено је поређење третираних и нетретираних лисних дискова, како би се утврдио проценат инхибиције:

$$I (\%) = \frac{A-B}{A} \times 100$$

Где је: I (%) - проценат инхибиције; А - просечна захваћеност листа у контроли; В - просечна захваћеност листа у третманима.

Класификација изолата на основу осетљивости вршена је на следећи начин:

- a) Осетљив изолат - уколико није забележен пораст изолата на третираном диску у препорученој концентрацији;
- b) Резистентан изолат - уколико је забележен пораст изолата на више од 50% третираног диска у препорученој концентрацији.

Са локалитета на којима су изведени пољски огледи у периоду од 2019. до 2022. године прикупљено је укупно 42 узорка, са локалитета где није било претходне историје примене фунгицида сакупљено је 8 узорака (тзв. „wild-type“ популације), а још 42 изолата је прикупљено из винограда код којих је последњих 10 година спровођена интензивна и полуинтензивна (екстензивна) заштита (Графикон 1). За утврђивање осетљивости популација *E. necator* на QoI фунгициде коришћено је укупно 92 изолата, на DMI фунгициде 71 изолат, на азнафталене 54 изолата и на арил-фенил кетоне 41 изолат.

Табела 12. Фунгициди коришћени у биотестовима

Назив препарата и препоручена концентрација (%)	Активна супстанца (садржај а.с. у g/l или g/kg формулисаног производа)	Коришћене концентрације препарата (%)	Концентрације а.с. (mg/l)	Концентрације а.с. (mg/l) за тестирање тзв. „wild-type“ популација
Lunar (0,02%)	500	0,02; 0,04; 0,08	100; 200; 400	0,01; 0,1; 1; 10; 100
Zato 50 WG (0,015%)	500	0,015; 0,03; 0,06	75; 150; 300	0,0075; 0,075; 0,75; 7,5; 75
Vivando (0,02%)	500	0,02; 0,04; 0,08	100; 200; 400	0,01; 0,1; 1; 10; 100
Kusabi (0,03%)	300	0,03; 0,06; 0,12	90; 180; 360	0,009; 0,09; 0,9; 9; 90
Crystal (0,02%)	250	0,02; 0,04; 0,08	50; 100; 200	0,005; 0,05; 0,5; 5; 50
Talendo (0,025%)	200	0,025; 0,05; 0,1	50; 100; 200	0,005; 0,05; 0,5; 5; 50
Foton (0,015%)	240	0,015; 0,03; 0,06	36; 72; 144	0,0036; 0,036; 0,36; 3,6; 36
Sekvenca (0,013%)	250	0,013; 0,026; 0,052	32,5; 65; 130	0,00325; 0,0325; 0,325; 3,25; 32,5
Folicur (0,04%)	250	0,04; 0,08; 0,16	100; 200; 400	0,01; 0,1; 1; 10; 100



Графикон 1. Број прикупљених изолата по локалитетима за извођење биотестова

4.4. Молекуларна детекција и карактеризација резистентности

4.4.1 Екстракција DNK

Из прикупљених узорак заражених листова и гроздова, извршена је екстракција DNK патогена. С обзиром на то да је знатно лакша и успешнија екстракција DNK са листова, него са гроздова, највећи део екстраховане DNK потиче управо са заражених листова. Заражени биљни материјал одмерен је на аналитичкој ваги и за сваки узорак измерено је 0,2 грама биљног материјала са симптомима пепелнице. У стерилним керамичким аванима вршена је хомогенизација и мацерација узорка помоћу стерилног тучка и течног азота. Након хомогенизације, садржај из авана пребачен је у Eppendorf микроепрувете у коме се налазио лизогени пуфер који је саставни део екстракционог DNA kit-а. Екстракција DNK вршена је помоћу DNeasy Mericon Food Kit-а (Qiagen) у складу са упутством произвођача. Екстрахована DNK чувана је у стерилној Eppendorf тубици запремине 1,5 ml у замрзивачу при температури -20°C до даље употребе, односно анализе.

4.4.2 Детекција G143A мутације употребом real-time PCR технике

За детекцију G143A алела за резистентност код популација резистентних на QoI фунгициде коришћена је ARMS-SYBR Green qPCR техника која је развијена од стране **Baudoin et al. (2008)**. Ова техника омогућава детекцију G143A алела као и његову квантификацију у *cut b* гену. За детекцију G143A мутације код различитих популација *E. necator* коришћени су следећи прајмери:

- прајмер за резистентан алел: 5'- TACGGGCAGATGAGCCTATGCGC -3'
- прајмер за „wild-type“ алел: 5'- TACGGGCAGATGAGCCTATGCGG -3'
- реверзни прајмер: 5'- ACCTACTTAAAGCTTTAGAAGTTTCC -3'

За сваки узорак DNK, истовремено су припремане две реакције за један програм пуштања real-time PCR-а, уз употребу специфичних прајмера. У првој реакционој смеши, која амплификује резистентан алел, коришћен је прајмер за резистентан алел (тзв. „mutant“ алел), док је у другој реакционој смеши коришћен прајмер који амплификује осетљив тј.

„wild-type“ алел. Реверзни прајмер био је заједнички за обе реакционе смеше. Укупна запремина PCR реакционе смеше била је 25 μ l, а садржала је следеће компоненте: 5 μ l екстраховане ДНК, 2,5 μ l прајмера (тзв. „forward“ или „reverse“ прајмери), 2,5 μ l Nuclease Free воде (Thermo Scientific) и 12,5 μ l Fast Gene ICGreen 2x qPCR Universal Mix (Nippon Genetics). Као негативна контрола, уместо ДНК патогена коришћена је стерилна дестилована вода. Реакције амплификације су се реализовале употребом МІС (енг. *Magnetic Induction Cyclor*) qPCR машине (Bio Molecular Systems, Australia). Иницијални параметри qPCR реакције који су постављени од стране **Baudoin et al. (2008)**, ради оптимизације методе, делимично су модификовани, а коришћени су следећи параметри: иницијално предзагревање при 95 °C у трајању 4 минута, праћено са 40 циклуса при 95 °C у трајању 10 секунди, 58 °C у трајању 15 секунди и 72 °C у трајању 15 секунди. Прикупљање података извршено је при 72 °C (**Colcol and Baudoin, 2016**). Одсуство нежељених продуката PCR реакције потврђено је аутоматском „melting curve“ анализом (**Dufour et al., 2011; Rallos et al., 2014**).

Процентуална заступљености G143A алела за резистентност у сваком узорку израчуната је на основу Cq вредности која је добијена након амплификације са сетом прајмера за нормално осетљив („wild-type“) и резистентан („mutant“) алел (**Miles et al., 2012**). За израчунавање процента G143A мутације за сваки изолат коришћена је следећа формула предложена од стране **Sirven and Beffa (2003)**:

$$\%G143A = 100 \times [1 \div (1 + 2^{CT(\text{mutant}) - CT(\text{wildtype})})]$$

Уколико је проценат G143A у митохондрјалној ДНК већи до 95% онда се такви изолати класификују у резистентне („mutant“), а уколико је мањи од 5%, такви изолати су окарактерисани као нормално осетљиви („wild type“) изолати. Укупно је прикупљено и тестирано 110 изолата у циљу детекције G143A мутације.

4.4.3 Детекција Y136F мутације употребом real-time PCR технике

За детекцију Y136F мутације у оквиру *sup51* гена, карактеристичну за резистентне популације *E. necator*, коришћена је qPCR техника са специфичним прајмерима. Пар прајмера је посебно дизајниран од стране **Dufour et al. (2011)** у циљу амплификације резистентаног (специфичног) алела код изолата *E. necator*. У PCR анализи коришћен је следећи пар прајмера:

- TGGGAAGTTAAAAGATGTCAACG („forward“ прајмер)
- TGAGTTTGGAAATTTGGACAATCAA („reverse“ прајмер)

Свака PCR реакција била је укупне запремине 14 μ l у којој се налазило: 7 μ l Fast Gene ICGreen 2x qPCR Universal Mix (Nippon Genetics), 5 μ l ДНК изолата и по 1 μ l сваког од два прајмера (100 nM). Као негативна контрола, уместо ДНК патогена коришћена је стерилна дестилована вода. Реакције амплификације су се реализовале употребом МІС qPCR машине (Bio Molecular Systems, Australia). Протокол који су предложили **Dufour et al. (2011)** за параметре PCR реакције модификован је од стране **Pintye et al. (2020)**, те су параметри били следећи: иницијална денатурација при 95 °C у трајању 5 минута, праћена са 40 циклуса при 95 °C у трајању 10 секунди, затим 10 секунди при 58 °C и 20 секунди при 72 °C. Прикупљање података извршено је при 72 °C, док је одсуство нежељених продуката PCR реакције потврђено аутоматском „melting curve“ анализом (**Dufour et al., 2011**).

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1 Огледи у пољу

5.1.1 Испитивања компаративне ефикасности фунгицида у сузбијању *E. necator*

Испитивања компаративне ефикасности различитих фунгицида у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, изведена су у периоду од 2019. до 2023. године. На огледном добру Пољопривредног факултета Радмиловац, огледи су изведени током три вегетационе сезоне (2019-2021) у експерименталном винограду сорте Chardonnay. Током прве експерименталне године, прва оцена на гроздовима изведена је 22.07.2019. године, а друга 04.08.2019. године, када је изведена и оцена на листовима. У овој години, метеоролошки услови погодовали су развоју патогена, те се интензитет обољења у контроли, на гроздовима, кретао од 51,93% (прва оцена) до 69,0% (друга оцена), док је интензитет обољења на листовима био нижи, 28,74% (Табела 13). Процент заражених гроздова у контроли (са симптомима обољења) кретао се од 81,5 до 88,5% (Прилог 4, Графикон П4-1).

Највећа ефикасност постигнута је применом флуксапироксада (препарат Sercadis) и она се кретала од 99,8 до 100% на гроздовима, док је на листовима забележена максимална ефикасност (100%). Овај фунгицид се, по ефикасности, статистички значајно разликовао од осталих варијанти. Групи фунгицида код којих је забележена висока ефикасност, а који се статистички нису разликовали, припадали су: дифеноконазол (препарат Sekvenca) (95,2-99,1% на гроздовима, 97,8% на листовима), спироксамин (препарат Spirox) (96,6-98,5% на гроздовима, 97,4% на листовима) и цифлуфенамид (препарат Cyflamid 5 EW) (95,1-98,8 % на гроздовима, 97,6% на листовима). Нешто нижа, али висока ефикасност забележена је применом проквиназида (препарат Talendo) и кретала се од 90,7 до 94,2% на гроздовима, док је на листовима ефикасност овог препарата била знатно нижа (73,4%).

По статистичком издвајању, у истој групи са проквиназидом, када се ради о ефикасности на гроздовима, налазио се и сумпор (препарат Kumulus DF) са ефикасношћу која се кретала од 84,0 до 95,5%. С друге стране, на листовима сумпор је испољио знатно већу ефикасност (96,2%) и био је у рангу са најефикаснијим фунгицидима. Нижа ефикасност од претходних варијанти, забележена је применом миклобутанила (препарат Foton) и боскалида (препарат Cantus), где је ефикасност у првој оцени на гроздовима била знатно виша него у другој, и кретала се од 60,2 (у другој оцени) до 89,6% (у првој оцени) у варијанти где је примењен миклобутанил, односно 69,9 (у другој оцени) до 92,3% (у првој оцени) у варијанти где је примењен боскалид. У оцени на листовима, миклобутанил је испољио знатно већу ефикасност (83,4%) него боскалид (45,9%).

Групи фунгицида код којих је забележена најмања ефикасност у огледу и који се међусобно нису статистички значајно разликовали, припадали су: метрафенон (препарат Vivando) (26,9-77,7% на гроздовима, 47,7% на листовима), пириофенон (препарат Kusabi) (19,3-71,0% на гроздовима, 45,3% на листовима), крезоксим-метил (препарат Lunar) (23,7-54,3% на гроздовима, 63,4% на листовима), трифлуксистробин (препарат Zato 50-WG) (24,1-66,1% на гроздовима, 50,5% на листовима) и квиноксифен (препарат Crystal 250 SC) (14,7-31,6% на гроздовима, 50,1% на листовима). Код ових варијанти проценат заражених гроздова, односно гроздова са симптомима обољења, био је готово идентичан као у контроли, и кретао се од 83,0% (крезоксим-метил) до 88,0% (пириофенон) (Прилог 4, Графикон П4-1).

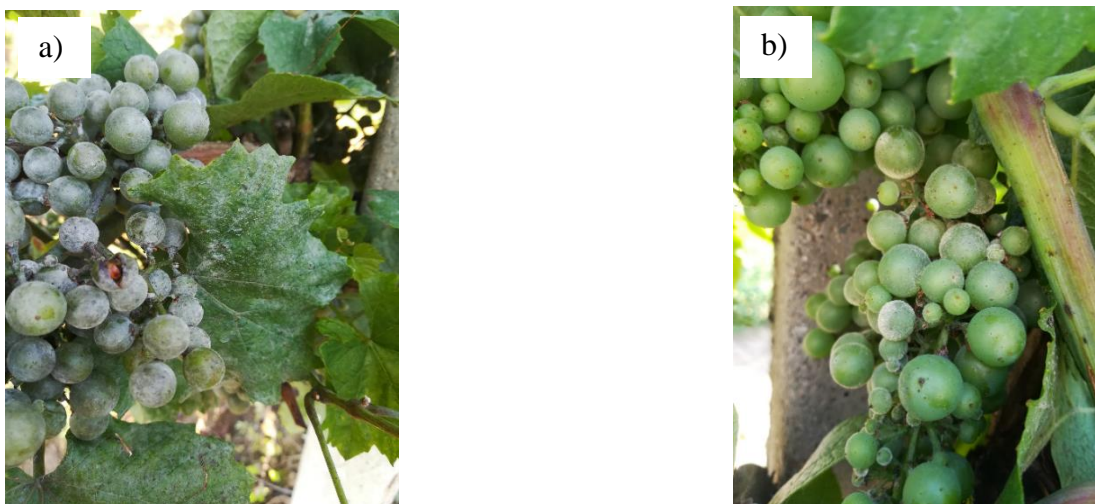
Табела 13. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2019. године на локалитету Радмиловац

Радмиловац (Оцене на гроздовима изведене 22.07. и 04.08, на листовима 04.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	51,93a	/	69,0a	/	28,74a	/
2	Vivando®	0,02	11,29e	77,7	50,6b	26,9	15,03b	47,7
3	Kusabi®	0,03	14,83d	71,0	55,09b	19,3	15,68b	45,3
4	Sercadis®	0,015	0,0i	100,0	0,07g	99,8	0,0g	100,0
5	Cantus®	0,12	3,96fg	92,3	20,6c	69,9	15,44b	45,9
6	Lunar®	0,02	23,48c	54,3	52,38b	23,7	10,45c	63,4
7	Zato® 50-WG	0,015	17,4d	66,1	51,8b	24,1	14,10b	50,5
8	Crystal™ 250 SC	0,02	34,78b	31,6	58,27b	14,7	14,22b	50,1
9	Talendo®	0,025	2,96g	94,2	6,39de	90,7	7,63d	73,4
10	Foton®	0,015	5,27f	89,6	27,48c	60,2	4,74e	83,4
11	Sekvenca®	0,013	0,42h	99,1	3,26ef	95,2	0,64f	97,8
12	Spirox®	0,06	0,78h	98,5	2,34f	96,6	0,74f	97,4
13	Cyflamid® 5 EW	0,05	0,64h	98,8	3,35ef	95,1	0,67f	97,6
14	Kumulus® DF	0,5	2,23g	95,5	11,0d	84,0	1,1f	96,2

У огледу који је изведен 2020. године на локалитету Радмиловац (Табела 14) забележен је нижи интензитет обољења у контроли на гроздовима (18,89-28,27%) него претходне године. Процент заражених гроздова у контроли кретао се од 58,1 до 75,2% (Прилог 4, Графикон П4-1). Интензитет обољења на листовима у контроли био је значајно мањи него претходне године и износио је 16,0%. Прва оцена на гроздовима изведена је 11.08.2020. године, а друга оцена 25.08.2020. године и тада је изведена оцена на листовима.

Као и 2019. тако и 2020. године, флуksапироксад је испољио највећу ефикасност у сузбијању *E. necator* и она је била максимална (100%), како на гроздовима, тако и на листовима. Висока ефикасност у сузбијању патогена на гроздовима забележена је код следећих фунгицида, који се статистички међусобно нису значајно разликовали: дифеноконазол (90,0-94,3%), спироksамин (91,9-93,9%), проксиназид (91,2-92,0%) и цифлуфенамид (88,4-92,5%). На листовима, ефикасност дифеноконазола и цифлуфенамида била је нешто виша (84,4-86,3%), у односу на варијанте проксиназид и спироksамин, код којих се ефикасност кретала од 77,5 (спироksамин) до 80,0% (проксиназид). Применом боскалида забележена је нешто нижа ефикасност у односу на претходне варијанте и кретала се од 77,0 до 86,4% на гроздовима, док је на листовима износила 59,4%.

Статистички посматрано, у истој групи, у односу на ефикасност на гроздовима, налазили су се сумпор и миклбутанил, и ефикасност код ових варијанти кретала се од 67,6 до 76,9%, односно 64,8 до 65,1%. Сумпор је испољио већу ефикасност на листовима (69,4%) него миклбутанил (42,5%). Ниску ефикасност у огледу испољили су метрафенон и пириофенон и они су према статистичком издвајању припадали истој групи. У овим варијантама остварена је ефикасност од 44,7 до 69,0% (на гроздовима), односно од 32,2 до 39,0% (на листовима). Најнижа ефикасност у огледу забележена је у варијантама трифлуксистробин, крезоксим-метил и квиноксифен, и ефикасност се кретала на следећи начин: на гроздовима - 21,9-38,4% (трифлуксистробин), 30,1-42,6% (крезоксим-метил) и 10,7-25,9% (квиноксифен); на листовима - 29,4% (трифлуксистробин), 38,9% (крезоксим-метил), 21,2% (квиноксифен). Варијанта у којој је примењен квиноксифен, у другој оцени на гроздовима, није се статистички значајно разликовала од контролне варијанте.



Слика 5. Изглед гроздова у контроли (а) и у третману (б) Kusabi (лок. Радмиловац, 2019. година)

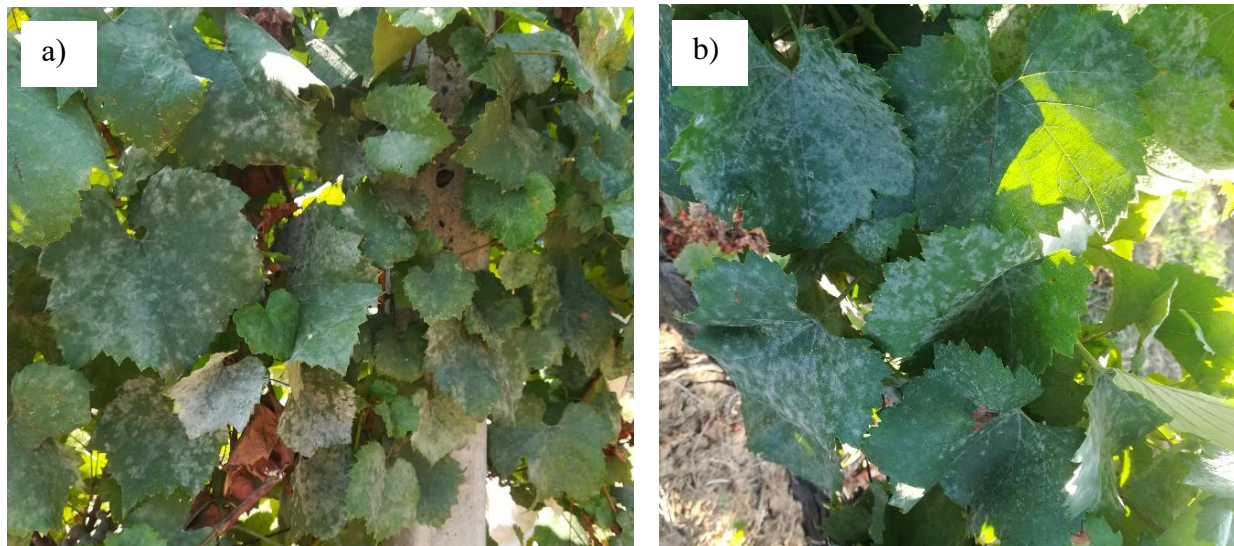
Табела 14. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2020. године на локалитету Радмиловац

Радмиловац (Оцене на гроздовима изведене 11.08. и 25.08, на листовима 25.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	18,89a	/	28,27a	/	16,0a	/
2	Vivando®	0,02	6,34d	65,6	15,57c	44,7	9,6c	39,0
3	Kusabi®	0,03	5,55de	69,0	14,09c	49,7	10,8bc	32,2
4	Sercadis®	0,015	0,0i	100,0	0,0h	100,0	0,0i	100,0
5	Cantus®	0,12	2,51f	86,4	6,36e	77,0	6,5e	59,4
6	Lunar®	0,02	10,5c	42,6	19,77b	30,1	9,7bc	38,9
7	Zato® 50-WG	0,015	11,62c	38,4	21,74b	21,9	11,2bc	29,4
8	Crystal™ 250 SC	0,02	13,92b	25,9	25,17a	10,7	12,5b	21,2
9	Talendo®	0,025	1,49gh	92,0	2,48f	91,2	3,1g	80,0
10	Foton®	0,015	6,57d	64,8	9,85d	65,1	9,2cd	42,5
11	Sekvenca®	0,013	1,04h	94,3	2,69f	90,0	2,5gh	84,4
12	Spirox®	0,06	2,27fg	87,8	2,27f	91,9	3,6fg	77,5
13	Cyflamid® 5 EW	0,05	1,33h	92,5	3,26f	88,4	2,2h	86,3
14	Kumulus® DF	0,5	4,27e	76,9	9,08d	67,6	4,9ef	69,4

Током 2021. године, на локалитету Радмиловац редукован је број испитиваних варијанти у односу на 2019. и 2020. годину, и у огледу су по први пут испитани препарати Luna Max, Toras 100 ЕС, као и друга комерцијална формулација на бази спироксамина, препарат Strix, у концентрацији 0,08%. Препарат Sekvenca, у овом огледу примењен је у већој концентрацији (0,02%) у односу на претходне две године испитивања (Табела 15).

Флуксапироксад и комбинација флуопирам + спироксамин (препарат Luna Max) остварили су највећу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе и ове две варијанте се статистички нису значајно разликовале. Флуксапироксад је испољио максималну ефикасност (100%) у сузбијању *E. necator* на гроздовима и ефикасност од 98,0% на листовима, док је применом комбинације флуопирам + спироксамин остварена ефикасност од 98,1 до 99,3% на гроздовима, односно 96,6% на листовима. Нешто нижу, али високу ефикасност, остварили су фунгициди дифеноконазол (91,7-92,6% на гроздовима, 93,0% на листовима), спироксамин (90,7-91,1% на гроздовима, 90,1% на листовима) и проквиназид (91,2-92,2% на гроздовима, 77,6% на листовима). Проквиназид је испољио статистички значајно нижу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на листовима у односу на претходне фунгициде.

Најнижа ефикасност у огледу, на гроздовима, забележена је применом пенконазола и сумпора који се статистички нису значајно разликовали. Ефикасност у варијанти са пенконазолом кретала се од 72,7 до 77,0% (на гроздовима), а на листовима ефикасност је била 75,7%. Применом сумпора остварена је ефикасност 66,2-73,4% на гроздовима, док је знатно већа ефикасност забележена на листовима (86,1%).



Слика 6. Изглед листова у контроли (а) и третману Crystal 250 SC (б) (Локалитет Радмиловац, 2020. година)

Табела 15. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2021. године на локалитету Радмиловац

Радмиловац (Оцене на гроздовима изведене 24.07. и 07.08, на листовима 07.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	20,14a	/	30,86	/	16,93a	/
2	Sercadis®	0,015	0,0c	100,0	0,0	100,0	0,33c	98,0
3	Talendo®	0,025	1,57c	92,2	2,71	91,2	3,79b	77,6
4	Sekvenca®	0,02	1,50c	92,6	2,57	91,7	1,18c	93,0
5	Strix®	0,08	1,79c	91,1	2,86	90,7	1,68c	90,1
6	Topas® 100 EC	0,025	4,64b	77,0	8,43	72,7	4,11b	75,7
7	Luna® Max	0,1	0,14c	99,3	0,57	98,1	0,57c	96,6
8	Kumulus® DF	0,5	5,36b	73,4	10,43	66,2	2,36bc	86,1

На локалитету Топола (Краљева винарија), огледи су изведени у комерцијалном винограду сорте Chardonnay у периоду од 2019. до 2023. године. У првој години истраживања, прва оцена интензитета обољења на гроздовима, изведена је 23.07, а друга 06.08.2019. године, када је изведена и оцена на листовима (Табела 16). Услови спољне средине погодовали су развоју патогена, па је забележен висок интензитет обољења у контроли на гроздовима, који се кретао од 38,39 до 52,36%, док је проценат заражених гроздова (са симптомима обољења) био 65,5-88,0% (Прилог 4, Графикон П4-2). На листовима, забележен је нешто нижи интензитет обољења, који је био 25,64%.

Највећу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице у огледу из 2019. године, испољио је флуксапироксад, где је забележена ефикасност од 99,1 до 100% на гроздовима, и 99,7% на листовима. Висока ефикасност постигнута је применом следећих фунгицида: дифеноконазол (92,3-99,2% на гроздовима, 95,5% на листовима), цифлуфенамид (93,0-96,3% на гроздовима, 93,1% на листовима) и спироксамин (95,3-99,2% на гроздовима, 96,5% на листовима). Проквиназид је испољио високу ефикасност у првој оцени на гроздовима (92,3%), док је другој оцени ефикасност била нижа (73,2%). Исти фунгицид испољио је значајно нижу ефикасност на листовима (48,7%).

Истој групи, према статистичком издвајању ефикасности на гроздовима, припадали су сумпор, миклобутанил и крезоксим-метил. Ефикасност ових варијанти кретала се 49,2-84,1% (сумпор), 49,2-50,4% (миклобутанил), односно 44,3-73,5% (крезоксим-метил). С друге стране, сумпор је испољио знатно вишу ефикасност у сузбијању *E. necator* на листовима (94,8%) која се није статистички значајно разликовала од најефикаснијих фунгицида. Миклобутанил и крезоксим-метил, на листовима, испољили су ефикасност 59,5%, односно 43,1%.

Ниска ефикасност забележена је применом фунгицида пириофенон (25,8-43,5% на гроздовима, 50,3% на листовима) и квиноксифен (26,7-55,7 на гроздовима, 49,3% на листовима) који се статистички нису значајно разликовали. Код ових фунгицида проценат заражених гроздова био је висок и кретао се од 76,5 до 85,5%. Статистички значајно нижу ефикасност у односу на претходне фунгициде, испољили су боскалид (13,7-37,5% на гроздовима, 42,3% на листовима) и метрафенон (8,5-43,8% на гроздовима, 25,4% на листовима) који се међусобно нису статистички значајно разликовали. Процент заражених гроздова код ових варијанти кретао се од 81,0 до 85,5% (Прилог 4, Графикон П4-2).

Најнижа ефикасност у огледу забележена је применом трифлуксистробина, где је ефикасност у првој оцени била ниска (36,0%), а у другој оцени негативна, како на гроздовима (-15,6%), тако и на листовима (-4,85%). Овај фунгицид у односу на контролу није се статистички значајно разликовао, чак је према статистичком издвајању у односу на интензитет обољења, у другој оцени био лошији од контроле. У овој варијанти проценат заражених гроздова био је 93,5%, што је више него у контролној варијанти, где је проценат заражених гроздова био 88,0%. (Прилог 4, Графикон П4-2).

Табела 16. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2019. године на локалитету Топола

Топола (Оцене на гроздовима изведене 23.07. и 06.08, на листовима 06.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	38,39a	/	52,36b	/	25,64a	/
2	Vivando®	0,02	21,56bc	43,8	47,92c	8,5	19,09b	25,4
3	Kusabi®	0,03	21,25bc	43,5	38,7d	25,8	12,65c	50,3
4	Sercadis®	0,015	0,0i	100,0	0,48i	99,1	0,04g	99,7
5	Cantus®	0,12	23,53b	37,5	45,14c	13,7	14,71c	42,3
6	Lunar®	0,02	9,95e	73,5	28,96e	44,3	14,56c	43,1
7	Zato® 50-WG	0,015	24,12b	36,0	60,59a	-15,6	26,80a	-4,85
8	Crystal™ 250 SC	0,02	16,95d	55,7	38,18d	26,7	12,95c	49,3
9	Talendo®	0,025	2,97g	92,3	14,0f	73,2	13,03c	48,7
10	Foton®	0,015	19,04cd	50,4	26,48e	49,2	10,34d	59,5
11	Sekvenca®	0,013	0,21i	99,2	3,99g	92,3	1,13ef	95,5
12	Spirox®	0,06	0,21i	99,2	2,43h	95,3	0,88f	96,5
13	Cyflamid® 5 EW	0,05	1,41h	96,3	3,64gh	93,0	1,77e	93,1
14	Kumulus® DF	0,5	6,04f	84,1	26,55e	49,2	1,31ef	94,8

На истом локалитету, током 2020. године испитивани су исти фунгициди као и претходне 2019. године, с тим да је у оглед укључено још четири фунгицида: мептил-динокап (Karathane Gold 350 EC; 0,05%), комбинација флуопирам + спироксамин (препарат Luna Max; 0,1%), тебуконазол (препарат Folicur 250 EW; 0,04%) и пиракlostробин (+метирам) (препарат Cabrio Top; 0,2%). Оцене су изведене 23.07. и 07.08. на гроздовима, и 07.08. на листовима. Метеоролошки услови су били погодни за развој патогена што је резултирало изузетно јакој појави симптома на гроздовима у контроли (100% заражених гроздова) и интензитету обољења који се кретао од 76,9 до 87,89%, док је на листовима интензитет обољења био 45,4% (Табела 17; Прилог 4, Графикон П4-2).

Највећу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, као и 2019. година, испољио је флуксапироксад (преко 98,0% на гроздовима, и 99,9% на листовима) и он се статистички значајно разликовао у односу на све остале варијанте. Високом ефикасношћу су се одликовали флуопирам + спироксамин (88,9-93,4% на гроздовима, 96,7% на листовима), проквиназид (90,2-94,5% на гроздовима, 85,6% на листовима) и спироксамин (87,1-92,6% на гроздовима, 94,1% на листовима), и међусобно се нису статистички значајно разликовали. Статистички значајно нижа ефикасност у односу на претходне варијанте установљена је применом фунгицида цифлуфенамид, дифеноконазол и тебуконазол. Код ових варијанти ефикасност у сузбијању патогена на гроздовима кретала се 60,8-70,4% (цифлуфенамид), 57,5-74,0% (дифеноконазол) и 60,0-64,5% (тебуконазол). На листовима ефикасност је била виша, и то 79,9% (цифлуфенамид), 82,6% (дифеноконазол) и 82,3% (тебуконазол).

Знатно нижу ефикасност остварио је миклобутанил и она се кретала од 35,9 до 40,9% на гроздовима, док је на листовима била нешто виша, односно 67,2%. У истој групи, према статистичком издвајању, налазили су се фунгициди пиракlostробин и мептил-динокап и код њих је на гроздовима забележена ефикасност 27,3-34,9% (пиракlostробин) и 27,4-36,5% (мептил-динокап), односно 59,0 и 48,5% на листовима. Јако ниска ефикасност постигнута је код следећих варијанти, које се међусобно нису статистички значајно разликовале: квиноксифен (20,1-21,5% на гроздовима, 33,0% на листовима), боскалид (15,2-24,1% на гроздовима, 42,5% на листовима), крезоксим-метил (14,3-14,4% на гроздовима, 37,8% на листовима) и метрафенон (10,2-22,2% на гроздовима, 23,2% на листовима). Применом сумпора остварена је знатно виша ефикасност на листовима (81,9%) него на гроздовима (9,9-13,9%).

Најмања ефикасност забележена је у варијантама са пириофеноном и трифлуксистробином. Пириофенон је испољио изузетно ниску ефикасност на гроздовима (7,5-7,8%) и негативну ефикасност на листовима (-1,0%) и није се статистички значајно разликовао од контролне варијанте. Трифлуксистробин је испољио негативну ефикасност како на гроздовима (-2,8 до -12,0%), тако и на листовима (-3,2%). У варијантама са метрафеноном, пириофеноном, трифлуксистробином, квиноксифеном и сумпором проценат заражених гроздова био је 100%, док је у варијантама са боскалидом, крезоксим-метилом, миклобутанилом, мептил-динокапом и пиракlostробином био изнад 92% (Прилог 4, Графикон П4-2).

Табела 17. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2020. године на локалитету Топола

Топола (Оцене на гроздовима изведене 23.07. и 07.08, на листовима 07.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	76,9ab	/	87,89ab	/	45,4a	/
2	Vivando®	0,02	59,71cd	22,2	78,49abcd	10,2	34,8b	23,2
3	Kusabi®	0,03	71,51bc	7,8	81,02abc	7,5	46,15a	-1,0
4	Sercadis®	0,015	0,53f	98,6	1,72h	98,0	0,01h	99,9
5	Cantus®	0,12	59,04cd	24,1	75,21bcd	15,2	26,16cd	42,5
6	Lunar®	0,02	68,38bc	14,4	77,83bcd	14,3	28,34c	37,8
7	Zato® 50-WG	0,015	87,18a	-12,0	90,87a	-2,8	46,84a	-3,2
8	Crystal™ 250 SC	0,02	60,27bcd	21,5	70,38cde	20,1	30,0bc	33,0
9	Talendo®	0,025	4,04f	94,5	8,52g	90,2	6,48f	85,6
10	Foton®	0,015	45,53d	40,9	56,02e	35,9	14,92e	67,2
11	Sekvenca®	0,013	19,84e	74,0	37,29f	57,5	7,89f	82,6
12	Spirox®	0,06	5,43f	92,6	10,98g	87,1	2,69g	94,1
13	Cyflamid® 5 EW	0,05	22,37e	70,4	34,06f	60,8	9,07f	79,9
14	Kumulus® DF	0,5	69,16bc	9,9	75,37bcd	13,9	8,19f	81,9
15	Karathane™ Gold 350 EC	0,05	48,32d	36,5	63,31de	27,4	23,29d	48,5
16	Luna® Max	0,1	4,84f	93,4	9,54g	88,9	1,45g	96,7
17	Folicur® 250 EW	0,04	26,5e	64,5	34,57f	60,0	7,95f	82,3
18	Cabrio Top®	0,2	50,08d	34,9	63,63de	27,3	18,61e	59,0

У огледу изведеном током 2021. године на локалитету Топола, испитиване су нешто другачије варијанте у односу на претходне две године. Препарат Folicur 250 EW (а.с. тебуконазол) примењен је у две концентрације – 0,04% и 0,06%, јер је утврђена ниска ефикасност у препорученој концентрацији у испитивању 2020. године, па је испитана и већа концентрација овог препарата. Фунгицид Sekvenca (а.с. дифеноконазол) примењен је у препорученој концентрацији 0,013% и једној већој (0,02%), с обзиром на то да је у испитивању 2020. године дошло до смањења ефикасности у препорученој концентрацији. Препарат Foton (а.с. миклобутанил) примењен је у концентрацији 0,03%, која је два пута већа од препоручене, управо због чињенице да је 2019. и 2020. године у огледима забележена ниска ефикасност овог фунгицида у препорученој концентрацији. Препарат Lunar (а.с. крезоксим-метил) примењен је у концентрацији која је била за 50% већа од препоручене (0,03%). У истраживање су током 2021. године укључене још две варијанте: Toras 100 EC (а.с. пенконазол) (0,025%) и Cidely Top (а.с. дифеноконазол + цифлуфенамид) (0,1%). У односу на претходну годину, где је испитивана ефикасност препарата Spirox, 2021. године испитана је ефикасност друге комерцијалне формулације на бази спироксамина, односно препарат Strix, у концентрацији 0,08% (Табела 18).

Прва оцена на гроздовима изведена је 05.08, а друга оцена на гроздовима и оцена на листовима 16.08.2021. године. Интензитет обољења у контроли, на гроздовима, је у односу на претходне године, био знатно нижи и кретао се од 20,31 до 25,2%, а проценат захваћених гроздова од 63,0 до 73,1% (Прилог 4, Графикон П4-2). Интензитет обољења на листовима био је 20,71%. Највећу ефикасност у сузбијању *E. necator* испољили су флукаспироксад (максимална ефикасност и на гроздовима и на листовима) и комбинација флуопирам + спироксамин (99,2-100,0% на гроздовима, 98,9% на листовима) и они су се статистички значајно разликовали у односу на све остале варијанте. Висока ефикасност забележена је применом фунгицида спироксамин (96,6-97,7% на гроздовима, 94,0% на листовима), цифлуфенамид (96,1-97,9% на гроздовима, 94,5% на листовима), комбинације дифеноконазол + цифлуфенамид (97,5-100% на гроздовима, 97,5% на листовима) и проквиназид (93,5-94,2% на гроздовима, 90,7% на листовима). Ове варијанте се међусобно нису статистички значајно разликовале. Висока ефикасност забележена је применом тебуконазола у концентрацији 0,06% која се кретала од 90,5 до 93,2% на гроздовима, док је на листовима била нешто нижа (87,6%).

Нижа ефикасност у односу на претходне варијанте, установљена је код дифеноконазола (конц. 0,02%) и миклобутанила (конц. 0,03%) где се ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима кретала од 80,1 до 86,1%, односно 77,3 до 85,3%. На листовима ефикасност је била 80,6% (дифеноконазол) и 67,9% (миклобутанил). Статистички значајно нижа ефикасност остварена је применом следећих фунгицида: тебуконазол (конц. 0,04%), дифеноконазол (конц. 0,013%) и пенконазол (конц. 0,025%). У овим варијантама ефикасност на гроздовима била је 63,8-76,2% (тебуконазол, конц. 0,04%), 60,7-69,2% (дифеноконазол, конц. 0,013%) и 63,2-69,8% (пенконазол, конц. 0,025%). На листовима ефикасност се кретала од 61,3 (дифеноконазол) до 69,3% (тебуконазол).

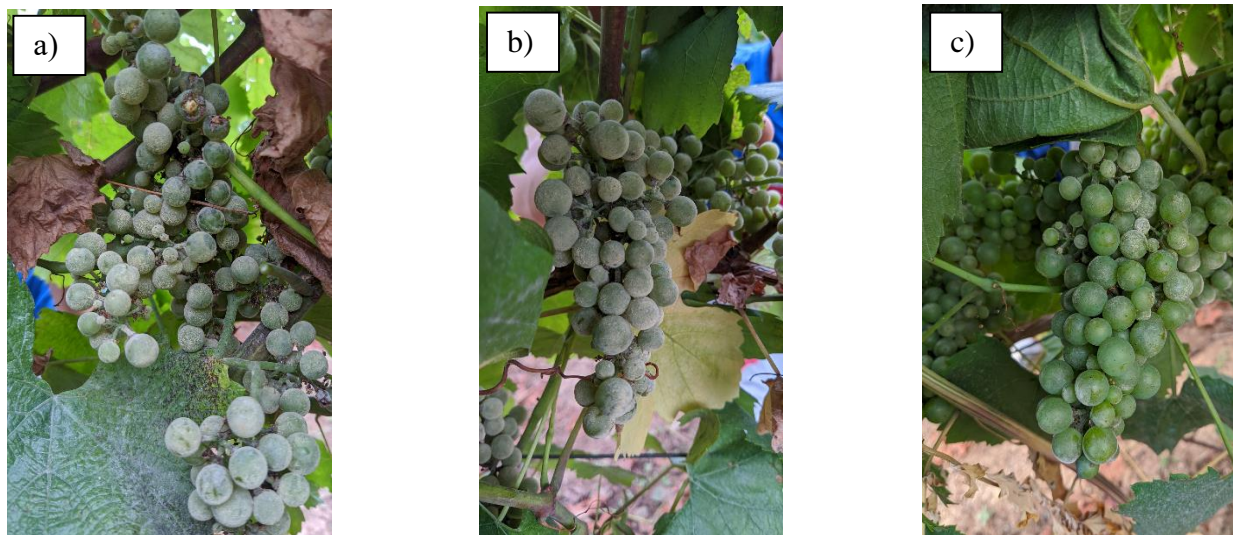
Најнижа ефикасност на гроздовима забележена је применом сумпора и крезоксим-метила. Сумпор је испољио знатно бољу ефикасност на листовима (76,2%), него на гроздовима (52,6-57,1%). Крезоксим-метил (у конц. 0,03%) испољио је ниску ефикасност како на гроздовима (52,2-65,9%), тако и на листовима (52,7%).

Табела 18. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2021. године на локалитету Топола

Топола (Оцене на гроздовима изведене 05.08. и 16.08, на листовима 16.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	20,31a	/	25,2a	/	20,71a	/
2	Folicur 250 EW [®]	0,04	4,75c	76,2	8,82c	63,8	6,27d	69,3
3	Folicur 250 EW [®]	0,06	1,33e	93,2	2,4e	90,5	2,53e	87,6
4	Sekvenca [®]	0,013	5,98bc	69,2	9,31bc	60,7	7,92cd	61,3
5	Sekvenca [®]	0,02	2,81d	86,1	4,97d	80,1	4,0e	80,6
6	Foton [®]	0,03	3,0d	85,3	5,72d	77,3	6,49d	67,9
7	Topas [®]	0,025	6,05bc	69,8	9,14bc	63,2	7,1cd	65,1
8	Strix [®]	0,08	0,35f	97,7	0,67f	96,6	1,1f	94,0
9	Luna [®] Max	0,1	0,0g	100,0	0,11g	99,2	0,15h	98,9
10	Sercadis [®]	0,015	0,0g	100,0	0,0g	100,0	0,0i	100,0
11	Cyflamid [®]	0,05	0,42f	97,9	0,97f	96,1	1,08f	94,5
12	Cydeli Top [®]	0,1	0,0g	100,0	0,62f	97,5	0,49g	97,5
13	Talendo [®]	0,025	1,06ef	94,2	1,6ef	93,5	1,81ef	90,7
14	Kumulus [®] DF	0,5	8,16b	57,1	11,32bc	52,6	4,83d	76,2
15	Lunar [®]	0,03	6,83bc	65,9	11,92b	52,2	9,73b	52,7

На истом локалитету, у огледу изведеном 2022. године, испитиване су сличне варијанте као и 2021. године, с тим да је препарат Folicur 250 EW примењен у концентрацијама 0,06 и 0,08%, а препарат Sekvenca 0,02 и 0,03%. За разлику од претходне године, у оглед нису били укључени следећи фунгициди: крезоксим-метил, миклобутанил и цифлуфенамид. Оцене на гроздовима изведене су 25.07. и 09.08.2022. године, када је изведена и оцена на листовима. За разлику од претходне године, у 2022. год. интензитет обољења на гроздовима у контроли је био виши и кретао се од 38,28 до 49,29%. Процент гроздова на којима су уочени симптоми пепелнице достигао је и 90% (Прилог 4, Табела П4-2). Интензитет обољења на листовима био је нижи и износио је 20,22% (Табела 19).

Највиша ефикасност у сузбијању *E. necator* забележена је применом флуксапироксада (100% на гроздовима и 99,2% на листовима) и комбинације флуопирам + спироksamин (98,8-99,6% на гроздовима и 96,6% на листовима). Висока ефикасност остварена је применом следећих фунгицида: комбинација дифеноконазол + цифлуфенамид (97,4-98,9% на гроздовима, 92,7% на листовима), спироksamин (94,7-96,5% на гроздовима, 86,6% на листовима) и тебуконазол (у концентрацији 0,08%) (94,6-97,2% на гроздовима, 83,1% на листовима). Нешто нижа, али висока ефикасност забележена је применом фунгицида проквиназид, дифеноконазол (у концентрацији 0,03%) и тебуконазол (у концентрацији 0,06%). Ефикасност на гроздовима била је у опсегу 92,3-95,4% (проквиназид), 87,6-90,1% (дифеноконазол), односно 84,7-89,2% (тебуконазол). На листовима, проквиназид је испољио ефикасност 79,9%, дифеноконазол у вишој концентрацији 73,2%, а тебуконазол у нижој концентрацији 65,5%. Сумпор је испољио нижу ефикасност у односу на претходне варијанте на гроздовима (73,0-79,4%), док је на листовима забележена слична ефикасност као и код претходних варијанти (76,9%). Дифеноконазол, примењен у нижој концентрацији (0,02%), испољио је статистички значајно нижу ефикасност у односу на све претходне варијанте, како на гроздовима тако и на листовима, те се ефикасност кретала од 35,4 до 38,8% на гроздовима, односно 38,7% на листовима. Најнижу ефикасност у огледу испољио је пенконазол, где је ефикасност на гроздовима била у опсегу 15,6-20,7%, а на листовима је забележена ефикасност од 16,3%. Код ове варијанте, проценат заражених гроздова у другој оцени је достигао 84% и није утврђена статистички значајна разлика са контролном варијантом.



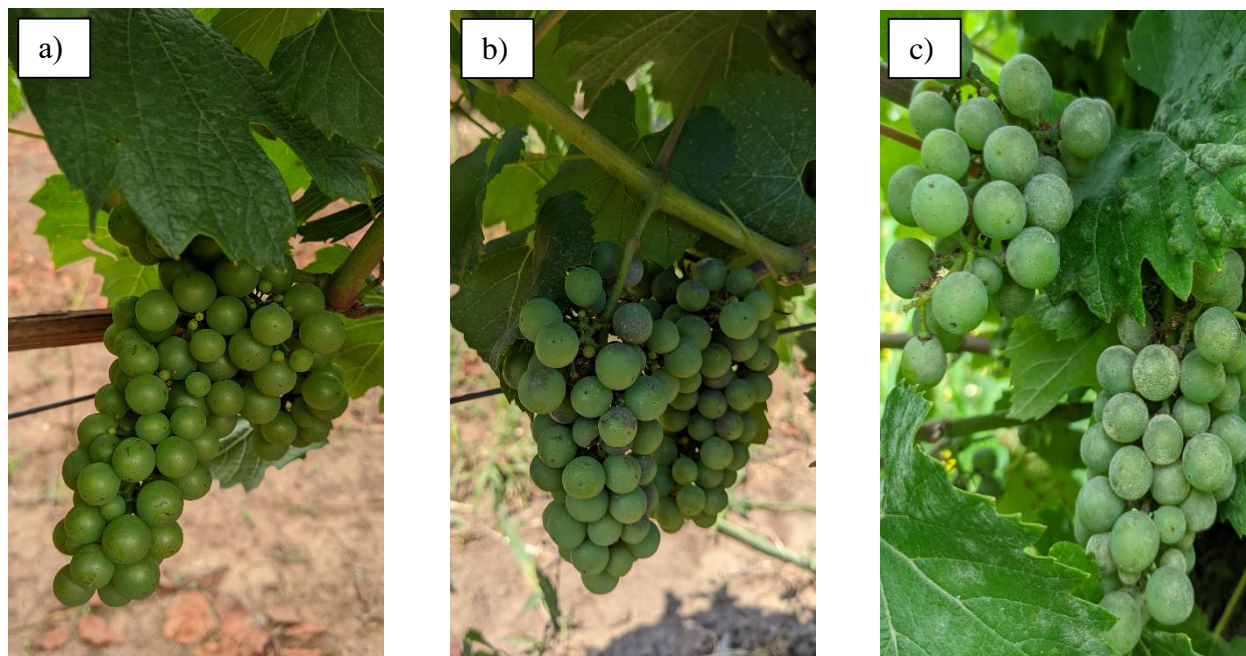
Слика 7. Изглед гроздова у контроли (а) и варијантама Zato (b) и Foton (c) (лок. Топола)

Табела 19. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2022. године на локалитету Топола

Топола (Оцене на гроздовима изведене 25.07. и 09.08, на листовима 09.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	38,28a	/	49,29a	/	20,22a	/
2	Folicur 250 EW [®]	0,06	4,09cd	89,2	7,53e	84,7	6,96d	65,5
3	Folicur 250 EW [®]	0,08	1,0ef	97,2	2,61gh	94,6	3,36fg	83,1
4	Sekvenca [®]	0,02	24,42b	35,4	30,05c	38,8	12,44c	38,7
5	Sekvenca [®]	0,03	3,71cd	90,1	6,09ef	87,6	5,41de	73,2
6	Topas [®]	0,025	32,3a	15,6	39,06b	20,7	16,74b	16,3
7	Strix [®]	0,08	1,33def	96,5	2,62gh	94,7	2,7g	86,6
8	Luna [®] Max	0,1	0,07fg	99,6	0,4ij	98,8	0,63i	96,6
9	Sercadis [®]	0,015	0,0g	100,0	0,0j	100,0	0,07j	99,2
10	Cydeli Top [®]	0,1	0,42efg	98,9	1,27hi	97,4	1,47h	92,7
11	Talendo [®]	0,025	1,77de	95,4	3,74fg	92,3	4,01ef	79,9
12	Kumulus [®] DF	0,5	6,90c	79,4	12,88d	73,0	4,57ef	76,9

У последњој години истраживања (2023), на локалитету Топола, испитиван је знатно мањи број варијанти, али су у овој години у истраживање укључени поједини фунгициди, који нису испитивани претходних година: Insajder (а.с. флуопирам) (конц. 0,03% и 0,05%), Revuona (а.с. мефентрифлуконазол) (конц. 0,13%) и Flosul (а.с. сумпор) (конц. 0,5%). Оцене на гроздовима су изведене 13.07. и 25.07.2023. године, док је оцена на листовима изведена 02.08.2023. године (Табела 20). Интензитет обољења у контроли кретао се од 36,43 до 44,57%, слично као и претходне године. Процент заражених гроздова био је у опсегу 78,5 до 83,0% (Прилог 4, Графикон П4-2). На листовима, интензитет обољења био је 34,25%.

Највећу ефикасност у огледу испољио је флуопирам, у концентрацији 0,05%, где је ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима била максимална (100%), а ефикасност на листовима 93,8%. Висока ефикасност на гроздовима и листовима постигнута је применом флуксапироксада (97,5-98,4% на гроздовима, 91,9% на листовима), мефентрифлуконазола (97,4-99,2% на гроздовима, 93,8% на листовима), спироксамина (96,8-97,8% на гроздовима, 90,0% на листовима), комбинације флуопирам + спироксамин (97,8-98,8% на гроздовима, 93,6% на листовима) и дифеноконазола у концентрацији 0,03% (94,7-97,5% на гроздовима, 89,9% на листовима). Статистички значајно нижу ефикасност у односу на претходне варијанте остварили су сумпор (конц. 0,5%) и флуопирам (конц. 0,03%). Сумпор је испољио ефикасност од 88,3 до 90,4% на гроздовима и 92,1% на листовима. С друге стране, флуопирам (0,03%) испољио је високу ефикасност на гроздовима (90,9-92,7%), али нешто нижу ефикасност на листовима у односу на претходне варијанте (82,0%).



Слика 8. Изглед гроздова у варијантама Sercadis (a), Sekvenca (b) и Crystal 250 SC (c) (лок. Топола, 2020. година)

Табела 20. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2023. године на локалитету Топола

Топола (Оцене на гроздовима изведене 13.07. и 25.07, на листовима 02.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	36,43a	/	44,57a	/	34,25a	/
2	Insajder	0,03	2,64b	92,7	4,07b	90,9	6,18b	82,0
3	Insajder	0,05	0,0c	100,0	0,0d	100,0	2,11c	93,8
4	Sercadis®	0,015	0,57c	98,4	1,13cd	97,5	2,79c	91,9
5	Sekvenca®	0,03	0,93c	97,5	2,36c	94,7	3,46c	89,9
6	Revyona®	0,13	0,29c	99,2	1,14cd	97,4	2,11c	93,8
7	Strix®	0,08	0,79c	97,8	1,43cd	96,8	3,43c	90,0
8	Luna® Max	0,1	0,43c	98,8	1,0cd	97,8	2,18c	93,6
9	Flosul®	0,5	3,5b	90,4	5,21b	88,3	2,71c	92,1

На локалитету Сланкаменачки Виногради, огледи су изведени током четири сезоне, 2019, 2020, 2021. и 2023. године. Испитивања компаративне ефикасности различитих фунгицида у сузбијању *E. necator*, вршена су у комерцијалном винограду, сорте Chardonnay. Током 2019. године, интензитет обољења у контролној варијанти на гроздовима кретао се од 20,92 до 39,41%, а појава симптома пепелнице забележена је на 68,0%, односно 84,0% гроздова (Прилог 4, Графикон П4-3). Интензитет обољења на листовима, у контроли, износио је 20,25%. Прва оцена на гроздовима изведена је 17.07, а друга 31.07.2019. године, када је изведена и оцена на листовима (Табела 21).

Највећа ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице постигнута је применом флуксапироксада и била је максимална на гроздовима (100%), и јако висока на листовима 98,6%. Високом ефикасношћу одликовали се боскалид и проквиназид, где је на гроздовима забележена ефикасност од 98,0 до 98,6% (боскалид), односно 97,0-98,6% (проквиназид). На листовима боскалид је испољио значајно већу ефикасност (95,2%) него проквиназид (84,1%). Висока ефикасност на гроздовима забележена је код следећих фунгицида: метрафенон, пириофенон и цифлуфенамид, и ови фунгициди се међусобно статистички значајно нису разликовали. Ефикасност ових фунгицида на гроздовима кретала се на следећи начин: 95,2-95,4% (метрафенон), 94,5-94,7% (пириофенон) и 94,1-94,4% (цифлуфенамид). На листовима ефикасност је била у опсегу од 91,7% (цифлуфенамид) до 93,1% (метрафенон). Нешто нижа ефикасност забележена је применом дифеноконазола (88,6-89,3% на гроздовима) и спироксамина (87,7-88,0 на гроздовима), који су према статистичком издвајању, припадали истој групи, тј. између њих није установљена статистички значајна разлика у ефикасности на гроздовима, али јесте на листовима, где је спироксамин (90,5%) испољио бољу ефикасност од дифеноконазола (84,5%).

Нижу ефикасност у односу на претходне варијанте, у сузбијању *E. necator* на гроздовима, испољио је сумпор, чија се ефикасност статистички значајно разликовала и кретала се од 62,9 до 71,1%. На листовима је, пак, ситуација била другачија, и овај фунгицид је испољио високу ефикасност (92,4%), па је био у рангу са најефикаснијим фунгицидима. Следећи по ефикасности, био је крезоксим-метил, где је забележена ефикасност од 53,2% до 65,7% на гроздовима, односно 50,1% на листовима. У истој групи по ефикасности на гроздовима налазио се миклобутанил, чија се ефикасност кретала од 44,9 до 63,6%, док је на листовима била 59,0%. Статистички значајна разлика није забележена између миклобутанила и квиноксифена, где је утврђена ефикасност од 42,6 до 47,0% на гроздовима и 59,1% на листовима.

Најнижа ефикасност у огледу, установљена је применом трифлуксистробина и она се статистички значајно разликовала у односу на све претходне варијанте. Ефикасност на гроздовима кретала се од 23,5 до 36,7%, а на листовима била је 30,9%.

Табела 21. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2019. године на локалитету Сланкаменачки Виногради

Сланкаменачки Виногради (Оцене на гроздовима изведене 17.07. и 31.07, на листовима 31.07)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	20,92a	/	39,41a	/	20,25a	/
2	Vivando®	0,02	0,97e	95,3	1,83g	95,2	1,36fg	93,1
3	Kusabi®	0,03	1,1e	94,5	2,05g	94,7	1,49fg	92,6
4	Sercadis®	0,015	0,0g	100,0	0,0i	100,0	0,21h	98,6
5	Cantus®	0,12	0,21f	98,6	0,73h	98,0	0,96g	95,2
6	Lunar®	0,02	7,02c	65,7	18,41d	53,2	10,09c	50,1
7	Zato® 50-WG	0,015	13,25b	36,7	29,73b	23,5	14,0b	30,9
8	Crystal™ 250 SC	0,02	10,95b	47,0	22,66c	42,6	8,27d	59,1
9	Talendo®	0,025	0,21f	98,6	1,08gh	97,0	3,2e	84,1
10	Foton®	0,015	7,59c	63,6	21,63cd	44,9	8,25d	59,0
11	Sekvenca®	0,013	2,19d	89,3	4,48f	88,6	3,14e	84,5
12	Spirox®	0,06	2,5d	88,0	4,76f	87,7	1,92f	90,5
13	Cyflamid® 5 EW	0,05	1,16e	94,1	2,18g	94,4	1,65f	91,7
14	Kumulus® DF	0,5	5,97c	71,1	14,54e	62,9	1,53fg	92,4

Наредне, 2020. године, на локалитету Сланкаменачки Виногради, број испитиваних варијанти је проширен за још 4 фунгицида: мептил-динокап (препарат Karathane Gold 300 EC; 0,05%), комбинација флуопирам + спироksamин (препарат Luna Max; 0,1%), тебуконазол (препарат Folicur 250 EW; 0,04%) и пираклостробин (+метирам) (препарат Cabrio Top; 0,2%). Метеоролошки услови током 2020. године, погодвали су развоју патогена, што је резултирало значајном појавом симптома у контролној варијанти. Интензитет обољења у контроли, на гроздовима, кретао се од 39,82 до 52,15%, са израженом учесталашћу појаве симптома на гроздовима која је била и преко 90% (Прилог 4, Графикон П4-3). На листовима, интензитет обољења био је 31,0% (Табела 22).

Највећом ефикасношћу у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе одликовали су се флуксапироксад и комбинација флуопирам + спироksamин. Применом флуксапироксада остварена је максимална ефикасност (100%), како на гроздовима, тако и на листовима, а комбинација флуопирам + спироksamин испољила је ефикасност већу од 99% на гроздовима и 97,5% на листовима. Ове две варијанте су се статистички значајно разликовале од свих осталих варијанти. Изузетно висока ефикасност забележена је применом проквиназида, како на гроздовима (98,5-99,3%), тако и на листовима (96,2%). Висока ефикасност, утврђена је и применом метрафенона (96,2-99,3% на гроздовима, 94,3% на листовима), пириофенона (96,0-97,7% на гроздовима, 94,0% на листовима) и боскалида (97,4-98,4% на гроздовима, 95,8% на листовима), и ове варијанте се међусобно нису статистички значајно разликовале. Висока ефикасност на гроздовима постигнута је применом следећих фунгицида: дифеноконазола (87,9-96,3%), спироksамина (91,0-97,1%) и цифлуфенамида (89,8-95,9%). Спироksамин и цифлуфенамид су испољили високу ефикасност на листовима (95,7 и 87,7%), док је дифеноконазол испољио знатно нижу ефикасност на листовима (79,9%) у односу на ова два фунгицида.

Нижа ефикасност, у односу на претходне фунгициде, забележена је применом тебуконазола, где се ефикасност кретала од 76,3 до 81,2% на гроздовима, односно 68,5% на листовима. Пираклостробин је испољио статистички значајно нижу ефикасност од тебуконазола, која се кретала од 65,9 до 68,4% на гроздовима, односно 44,8% на листовима. У истој групи, према статистичком издвајању, нашли су се крезоксим-метил и квиноксифен, где се ефикасност на гроздовима применом крезоксим-метила кретала од 58,9 до 61,6%, односно применом квиноксифена остварена је ефикасност од 57,0 до 72,6%. На листовима, оба фунгицида су испољила ниску ефикасност, 35,2%, односно 31,8%. Ниску ефикасност испољио је и миклобутанил, која је била у опсегу 48,9-63,6% (на гроздовима), док је ефикасност на листовима била значајно нижа (23,2%).

Трифлуксистробин је испољио ниску ефикасност на гроздовима (38,8-45,6%) и негативну ефикасност на листовима (-14,7%). Јако ниска ефикасност установљена је применом мептил-динокапа, како на гроздовима (13,8-15,6%), тако и на листовима (25,3%). Најнижа ефикасност на гроздовима, забележена је код сумпора и у обе оцене била је негативна (-35,8 до -45,0%). Процент заражених гроздова у овој варијанти је био преко 97% (Прилог 4, Графикон П4-3). За разлику од веома ниске ефикасности на гроздовима, сумпор је испољио нешто бољу ефикасност на листовима, која је била 49,0%.

Табела 22. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2020. године на локалитету Сланкаменачки Виногради

Сланкаменачки Виногради (Оцене на гроздовима изведене 22.07. и 06.08, на листовима 06.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	39,92b	/	52,15b	/	31,0b	/
2	Vivando®	0,02	0,21fgh	99,3	1,97jk	96,2	1,69i	94,3
3	Kusabi®	0,03	0,91fg	97,7	2,06j	96,0	1,83i	94,0
4	Sercadis®	0,015	0,0h	100,0	0,0l	100,0	0,0k	100,0
5	Cantus®	0,12	0,61fgh	98,4	1,35jk	97,4	1,26ij	95,8
6	Lunar®	0,02	15,25cd	61,6	21,34fg	58,9	20,07d	35,2
7	Zato® 50-WG	0,015	21,72c	45,6	31,77d	38,8	35,52a	-14,7
8	Crystal™ 250 SC	0,02	10,66de	72,6	22,36ef	57,0	21,09cd	31,8
9	Talendo®	0,025	0,21fgh	99,3	0,77k	98,5	1,16ij	96,2
10	Foton®	0,015	14,32d	63,6	26,55e	48,9	23,71c	23,2
11	Sekvenca®	0,013	1,47f	96,3	6,25i	87,9	6,18g	79,9
12	Spirox®	0,06	1,1fg	97,1	4,65i	91,0	1,32ij	95,7
13	Cyflamid® 5 EW	0,05	1,6f	95,9	5,25i	89,8	3,81h	87,7
14	Kumulus® DF	0,5	58,3a	-45,0	71,14a	-35,8	15,73e	49,0
15	Karathane™ Gold 350 EC	0,05	33,73b	15,6	45,04c	13,8	23,14c	25,3
16	Luna® Max	0,1	0,02gh	99,8	0,07l	99,7	0,78j	97,5
17	Folicur® 250 EW	0,04	7,42e	81,2	12,18h	76,3	9,73f	68,5
18	Cabrio Top®	0,2	12,6de	68,4	17,59g	65,9	16,96e	44,8

Током 2021. године, на локалитету Сланкаменачки Виногради, испитиване су сличне варијанте, с тим да је у оглед укључен и препарат Toras 100 EC, као и друга комерцијална формулација фунгицида на бази спироксамина - препарат Strix, у концентрацији 0,08%. Концентрација примене, у односу на 2020. годину, повећана је код следећих варијанти: Sekvenca (0,02%), Lunar (0,03%), Folicur 250 EW (0,06%). Оцене на гроздовима су изведене 18.07. и 01.08.2021. године, док је оцена на листовима изведена 08.08.2021. године. Погодни услови за развој патогена током ове експерименталне године, резултирали су интензивном појавом симптома у контролној варијанти, која се кретала од 54,1 до 83,25% (Табела 23). Процент заражених гроздова у другој оцени био је 100% (Прилог 4, Графикон П4-3). Висок интензитет обољења, установљен је и у оцени на листовима и био је 51,01% (Табела 23).

Највећа ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе забележена је применом флуксапирооксида, са максималном ефикасношћу на гроздовима (100%), и ефикасношћу од 99,2% на листовима. У истом рангу, налазили су се комбинација флуопирам + спироксамин и проквиназид, са ефикасношћу 99,6% на гроздовима, односно 98,9% на листовима у комбинацији флуопирам + спироксамин, док је применом проквиназида забележена изузетно висока ефикасност на гроздовима (99,1-99,5%) али нешто нижа ефикасност на листовима (86,0%). Јако висока ефикасност постигнута је и применом боскалида, како на гроздовима (98,9-99,1%), тако и на листовима (97,9%). Фунгициди метрафенон, спироксамин, цифлуфенамид и пириофенон испољили су високу ефикасност и према статистичком издвајању сврстани су у исту групу. Ефикасност на гроздовима кретала се од 96,0-96,8% (метрафенон), 97,5-98,8% (спироксамин), 97,2% (цифлуфенамид) и 95,8-96,2% (пириофенон). Код ових фунгицида висока ефикасност је постигнута и на листовима и кретала се од 93,9% (спироксамин) до 95,3% (цифлуфенамид). Нешто нижа, али висока ефикасност на гроздовима, установљена је применом дифенокназола (препарат Sekvenca у концентрацији 0,02%), и кретала од 92,4 до 94,0%, док је ефикасност на листовима била знатно нижа (81,8%).

Задовољавајућа ефикасност постигнута је применом тебуконазола (препарат Folicur у концентрацији 0,06%), и кретала се од 84,9 до 88,4% на гроздовима, односно била је 80,6% на листовима. Статистички значајно нижа ефикасност установљена применом пенконазола, која се кретала у опсегу 77,4-84,1% (на гроздовима), док је на листовима била нижа, односно 63,7%. Нешто нижу ефикасност у односу на пенконазол, испољио је крезоксим-метил (препарат Lunar у концентрацији 0,03%), и она се кретала од 70,1 до 77,2% на гроздовима, док је на листовима утврђена изузетно ниска ефикасност (38,7%), што је уједно и најнижа постигнута ефикасност на листовима у огледу из 2021. године.

Најнижа ефикасност на гроздовима у огледу изведеном 2021. године на локалитету Сланкаменачки Виногради, забележена је у варијантама са сумпором (63,6-73,0%) и миклобутанилом (67,3-75,5%). За разлику од миклобутанила чија је ефикасност на листовима била 62,9%, сумпор је испољио јако високу ефикасност на листовима (96,4%), која је била у рангу са најефикаснијим фунгицидима у огледу.

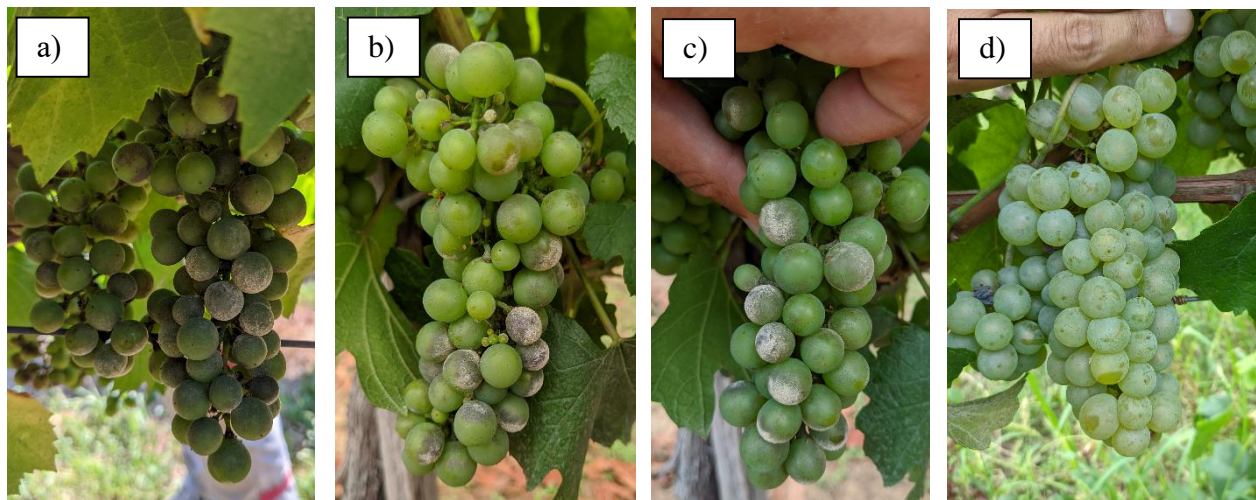
Табела 23. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2021. године на локалитету Сланкаменачки Виногради

Сланкаменачки Виногради (Оцене на гроздовима изведене 18.07. и 01.08, на листовима 08.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	54,1a	/	83,25a	/	51,01a	/
2	Vivando®	0,02	1,84ef	96,0	2,58fg	96,8	2,46e	95,1
3	Kusabi®	0,03	2,04ef	95,8	3,06ef	96,2	2,6e	94,7
4	Sercadis®	0,015	0,0h	100,0	0,0i	100,0	0,25g	99,2
5	Cantus®	0,12	0,42fgh	99,1	0,91fgh	98,9	1,04efg	97,9
6	Lunar®	0,03	11,71b	77,2	24,75bc	70,1	30,72b	38,7
7	Foton®	0,03	12,9b	75,5	27,02b	67,3	18,56c	62,9
8	Strix®	0,08	0,65fgh	98,8	1,92fg	97,5	2,83e	93,9
9	Luna® Max	0,1	0,11h	99,6	0,18hi	99,6	0,35fg	98,9
10	Sekvenca®	0,02	3,16de	94,0	6,33e	92,4	8,8d	81,8
11	Cyflamid® 5 EW	0,05	1,52efg	97,2	2,25fg	97,2	2,32e	95,3
12	Topas® 100 EC	0,025	8,32bc	84,1	18,58c	77,4	17,62c	63,7
13	Talendo®	0,025	0,21gh	99,5	0,68ghi	99,1	6,81d	86,0
14	Kumulus® DF	0,5	12,81b	76,0	28,98b	63,6	1,81ef	96,4
15	Folicur® 250 EW	0,06	5,92cd	88,4	12,41d	84,9	9,81d	80,6

Последње године истраживања (2023. године), на локалитету Сланкаменачки Виногради, испитиване су поједине варијанте, које претходних година нису биле укључене у огледе, као што су: флуопирам (препарат Insajder у конц. 0,03 и 0,05%), мефентрифлуконазол (препарат Revuona у конц. 0,13%) и комбинација дифеноконазол + цифлуфенамид (препарат Sidely Top у конц. 0,1%). Прва оцена на гроздовима, спроведена је 17.07.2023. године, а друга оцена на гроздовима, као и оцена на листовима 28.07.2023. године. Услови за развој патогена били су погодни, па је и интензитет обољења у контроли био висок, и кретао се од 46,46 до 64,86% на гроздовима, док је на листовима био 36,86%. Процент заражених гроздова у контроли такође је био висок, и у другој оцени чак на 97,0% гроздова уочени су симптоми пепелнице (Табела 24; Прилог 4, Графикон П4-3).

Висока ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима, у огледу током 2023. године, постигнута је применом следећих фунгицида: флуксапироксад (100% ефикасност на гроздовима, 96,2% на листовима), флуопирам у концентрацији 0,05% (99,1-99,5% на гроздовима, 95,8% на листовима), дифеноконазол (97,5-98,6% на гроздовима, 93,4% на листовима), мефентрифлуконазол (99,9-100,0% на гроздовима, 96,9% на листовима), комбинација флуопирам + спироксамин (99,6-99,8% на гроздовима, 96,5% на листовима), комбинација дифеноконазол + цифлуфенамид (97,3-98,5% на гроздовима, 95,5% на листовима). Нешто нижа ефикасност забележена је у варијантама са флуопирамом у концентрацији 0,03% и спироксамином, где се ефикасност на гроздовима кретала од 95,2 до 97,1 (флуопирам), односно 95,4-96,9% (спироксамин).

Најнижу ефикасност на гроздовима испољио је метрафенон (91,2-94,1%) и она се статистички значајно разликовала у односу на најефикасније варијанте. Исти фунгицид испољио је ефикасност већу од 90% на листовима. На листовима, најнижа ефикасност забележена је применом флуопирама у концентрацији 0,03% (84,3%) и она се статистички значајно разликовала у односу на све остале варијанте.



Слика 9. Изглед гроздова у контроли (а) и варијантама Lunar (b), Kumulus DF (c) и Vivando (d) (лок. Сланкаменачки Виногради, 2021. година)

Табела 24. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2023. године на локалитету Сланкаменачки Виногради.

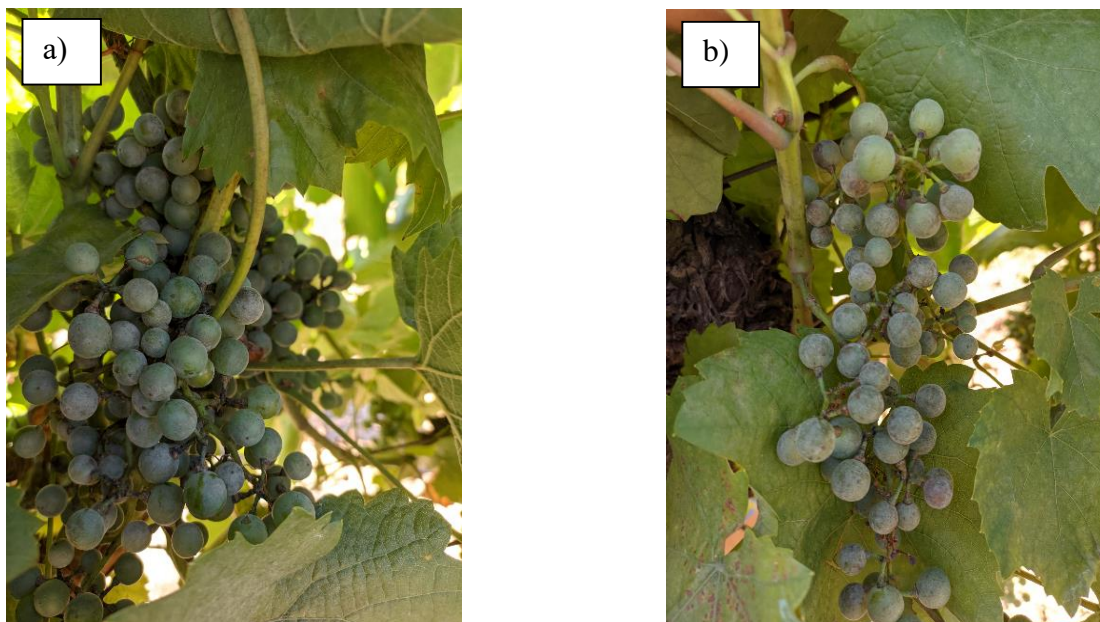
Сланкаменачки Виногради (Оцене на гроздовима изведене 17.07. и 28.07, на листовима 28.07)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	46,36a	/	64,86a	/	36,86a	/
2	Insajder	0,03	1,36b	97,1	3,41bc	95,2	5,79b	84,3
3	Insajder	0,05	0,21b	99,5	0,57c	99,1	1,54cd	95,8
4	Sercadis®	0,015	0,0b	100,0	0,0c	100,0	1,39de	96,2
5	Sekvenca®	0,02	0,50b	97,5	0,93c	98,6	2,43cd	93,4
6	Revyona®	0,13	0,0b	100,0	0,07c	99,9	1,14de	96,9
7	Strix®	0,08	1,43b	96,9	3,01bc	95,4	2,71cd	92,6
8	Luna® Max	0,1	0,07b	99,8	0,29c	99,6	1,29de	96,5
9	Vivando®	0,02	2,71b	94,1	5,71b	91,2	3,61c	90,2
10	Cidely® Top	0,1	0,71b	98,5	1,73c	97,3	1,64cd	95,5

Испитивања компаративне ефикасности фунгицида у сузбијању *E. necator*, на локалитету Нештин, вршена су у периоду од 2020. до 2023. године у комерцијалном винограду сорте Frankovka. Током прве године истраживања, укупно је тестирано 10 варијанти (укључујући и контролну варијанту). Прва оцена на гроздовима изведена је 24.07.2020. године, а друга оцена на гроздовима, као и оцена на листовима 08.08.2020. године. Интензитет обољења у контроли, на гроздовима, кретао се од 24,35 до 33,64%, а проценат заражених гроздова од 53,0 до 63,5%. На листовима, интензитет обољења је био нешто нижи, и износио је 24,9% (Табела 25; Прилог 4, Графикон П4-4).

Највећа ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе забележена је применом боскалида и спироксамина, и ефикасност на гроздовима кретала од 93,6 до 96,5% (боскалид), односно 92,8-95,6% (спироксамин). На листовима, оба препарата су испољила високу ефикасност, која је била 91,6% за први, односно 92,2%, за други фунгицид. Нешто нижу, али високу ефикасност, оствариле су варијанте пириофенон (91,0-91,8% на гроздовима, 89,1% на листовима), цифлуфенамид (90,6-92,1% на гроздовима, 91,5% на листовима) и проквиназид (88,9-91,5% на гроздовима, 87,1% на листовима). У односу на најефикасније варијанте, ефикасност проквиназида се статистички значајно разликовала.

Ниска ефикасност забележена је применом дифеноконазола на гроздовима (65,1-73,7%) и на листовима (63,6%). Статистички значајно нижу ефикасност у односу на дифеноконазол, остварио је миклобутанил, 48,7-64,1% на гроздовима и 43,3% на листовима.

Најнижа ефикасност забележена је у варијантама са крезоксим-метилом и квиноксифеном, и ове варијанте се нису статистички значајно разликовале. Ефикасност на гроздовима кретала се од 39,3 до 52,5% (крезоксим-метил), односно 33,3-41,1% (квиноксифен). На листовима крезоксим-метил испољио је ниску ефикасност (43,3%), док је применом квиноксифена забележена најнижа ефикасност на листовима у огледу из 2020. године (27,1%).



Слика 10. Изглед гроздова у контроли (а) и третману Lunar (б) (лок. Нештин, 2020. година)

Табела 25. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2020. године на локалитету Нештин

Нештин (Оцене на гроздовима изведене 24.07. и 08.08, на листовима 08.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	24,35a	/	33,63a	/	24,9a	/
2	Cantus®	0,12	0,83g	96,5	2,13f	93,6	2,05f	91,6
3	Kusabi®	0,03	1,98f	91,8	2,99ef	91,0	2,69ef	89,1
4	Foton®	0,015	8,7d	64,1	17,26c	48,7	14,1c	43,3
5	Lunar®	0,02	11,54c	52,5	20,41b	39,3	15,37c	37,6
6	Spirox®	0,06	1,04g	95,6	2,4f	92,8	1,92f	92,2
7	Sekvenca®	0,013	6,4e	73,7	11,69d	65,1	9,03d	63,6
8	Cyflamid® 5 EW	0,05	1,89f	92,1	3,11ef	90,6	2,03f	91,5
9	Crystal™ 250 SC	0,025	14,34b	41,1	22,3b	33,3	18,14b	27,1
10	Talendo®	0,025	2,02f	91,5	3,64e	88,9	3,17e	87,1

У огледу који је изведен 2021. године, на локалитету Нештин, проширен је број испитиваних варијанти у односу на претходну годину, и следећи фунгициди су били укључени у оглед: Cidely Top (0,1%), Sercadis (0,015%), Luna Max (0,1%), Topas 100 EC (0,025%) и Kumulus DF (0,5%). Уместо препарата Spirox, коришћен је други препарат на бази спироксамина – Strix (0,08%). Фунгициди Sekvenca и Foton су за разлику од 2020. године, коришћени у концентрацијама 0,02% и 0,03%, јер је у резултатима из претходне године установљена ниска ефикасност ова два фунгицида у препорученим концентрацијама примене (0,013% и 0,015%). Прва оцена на гроздовима изведена је 20.07.2021. године, а друга оцена на гроздовима и оцена на листовима 06.08.2021. године. Интензитет обољења у контроли био је нешто већи него претходне године и износио је 35,65-49,57%, на гроздовима и 30,7% на листовима. Процент гроздова са симптомима пепелнице био је изузетно висок у обе оцене и кретао се од 71,5 до 97,0% (Табела 26; Прилог 4, Графикон П4-4).

Највишу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице испољили су флуксапироксад, са максималном ефикасношћу на гроздовима (100%) и готово максималном на листовима (99,6%), и комбинација флуопирам + спироксамин где се ефикасност на гроздовима кретала од 98,8 до 99,5%, а на листовима 98,3%. Следећој групи по ефикасности, припадали су боскалид, спироксамин, пириофенон и комбинација дифеноконазол + цифлуфенамид, код којих се ефикасност на гроздовима кретала 95,4-97,5%, 95,2-96,1%, 92,3-94,1% и 91,6-93,1%, редом. На листовима ефикасност се кретала од 90,5% (комбинација дифеноконазол + цифлуфенамид) до 92,8% (боскалид). Висока ефикасност на гроздовима, установљена је и применом проквиназида (90,0-91,6%) и цифлуфенамида (90,4-91,7%), док је ефикасност цифлуфенамида на листовима, била нешто већа (90,5%) у односу на проквиназид (86,4%).

Статистички значајно нижу ефикасност у односу на претходне варијанте, испољио је дифеноконазол, и она се кретала од 77,3 до 83,2% на гроздовима, док је на листовима била значајно нижа 65,3%. Нижу ефикасност од дифеноконазола испољио је сумпор, чија је ефикасност на листовима била значајно виша (79,9%) него на гроздовима (58,5-62,5%).

Истој групи, према статистичком издвајању, припадали су пенконазол и миклобутанил, са ефикасношћу 48,8-52,8% и 44,8-68,6% на гроздовима, односно 45,7% и 35,1% на листовима. Најнижа ефикасност, на гроздовима, забележена је у варијантама са крезоксим-метилом (35,2-39,4%) и квиноксифеном (31,9-41,4%), док је применом квиноксифена остварена најнижа ефикасност на листовима (21,9%).

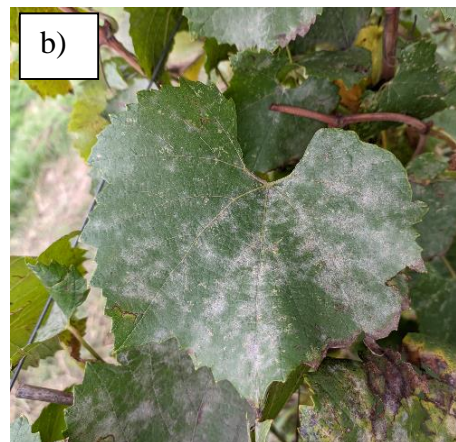
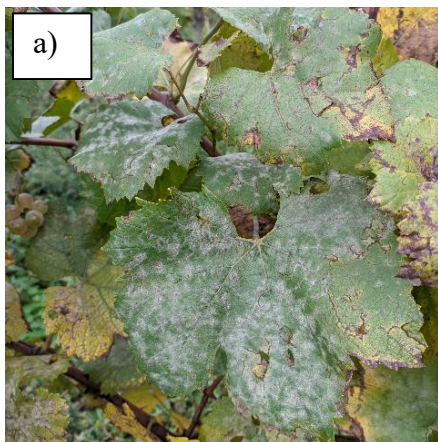
Табела 26. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2021. године на локалитету Нештин

Нештин (Оцене на гроздовима изведене 20.07. и 06.08, на листовима 06.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	35,65a	/	49,57a	/	30,7a	/
2	Cidely Top®	0,1	2,36fg	93,1	4,1fg	91,6	2,86gh	90,5
3	Kusabi®	0,03	2,07fg	94,1	3,78fgh	92,3	2,32h	92,4
4	Sercadis®	0,015	0,0i	100,0	0,0j	100,0	0,07j	99,6
5	Cantus®	0,12	0,87h	97,5	2,22h	95,4	2,07h	92,8
6	Lunar®	0,02	21,33b	39,4	31,86b	35,2	19,51c	36,0
7	Foton®	0,03	11,06d	68,6	26,75c	44,8	19,62c	35,1
8	Strix®	0,08	1,34gh	96,1	2,35gh	95,2	2,24h	92,6
9	Luna® Max	0,1	0,11i	99,5	0,31i	98,8	0,39i	98,3
10	Sekvenca®	0,02	5,8e	83,2	10,99e	77,3	10,58e	65,3
11	Cyflamid® 5 EW	0,05	2,83f	91,7	4,62f	90,4	2,83gh	90,5
12	Topas® 100 EC	0,025	16,49c	52,8	25,18c	48,8	16,63d	45,7
13	Talendo®	0,025	2,97f	91,6	4,84f	90,0	4,13g	86,4
14	Kumulus® DF	0,5	12,97d	62,5	20,2d	58,5	6,08f	79,9
15	Crystal™ 250 SC	0,02	20,61b	41,4	33,41b	31,9	23,78b	21,9

Током 2022. године, на локалитету Нештин, вршено је испитивање нешто мањег броја варијанти у односу на претходну годину, а поједини фунгициди су примењени у већим концентрацијама, као што су: Sekvenca (0,03%), Lunar (0,03%), Kumulus DF (0,7%). Оцене на гроздовима изведене су 18.07. и 04.08.2022. године, када је изведена и оцена на листовима. Услови спољне средине погодовали су развоју патогена, што је резултирало значајној појави симптома пепелнице у контролним варијантама. Интензитет обољења у контроли на гроздовима, кретао се од 55,79 до 69,02%, а проценат заражених гроздова у другој оцени био је 99%. Интензитет обољења на листовима је био значајно већи него претходних година, чак 60,08% (Табела 27; Прилог 4, Графикон П4-4).

У сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, највећу ефикасност испољио је флуксапироксад, која је била максимална (100%) на гроздовима и 97,6% на листовима. Веома висока ефикасност забележена је применом комбинације флуопирам + спироксамин, која се кретала од 97,8 до 99,4% на гроздовима, а на листовима је била 95,8%. Висока ефикасност како на гроздовима, тако и на листовима, остварена је применом следећих фунгицида: спироксамин (93,7-96,0% на гроздовима, 95,8% на листовима), пириофенон (92,6-94,1% на гроздовима, 94,2% на листовима), комбинација дифеноконазол + цифлуфенамид (91,2-92,5% на гроздовима, 94,9% на листовима) и цифлуфенамид (89,7-92,2% на гроздовима, 93,3% на листовима). Нешто нижу ефикасност у односу на претходне варијанте, на гроздовима, испољио је проквиназид (84,9-90,6%), док је ефикасност на листовима била знатно нижа, само 47,0%.

Статистички значајно нижа ефикасност у односу на претходне варијанте, забележена је применом дифеноконазола (препарат Sekvenca у конц. 0,03%). На гроздовима, његова ефикасност се кретала од 68,0 до 75,9%, док је на листовима ефикасност била изузетно ниска, само 34,8%. Сумпор (препарат Kumulus DF у конц. 0,7%,) испољио је значајно већу ефикасност на листовима (85,7%), него на гроздовима (54,7-55,9%). Јако ниска ефикасност на гроздовима и листовима забележена је применом пенконазола, 31,7-32,2% на гроздовима, односно 4,7% на листовима и ова варијанта се није статистички значајно разликовала у односу на контролу, обзиром да је проценат заражених гроздова достигао чак 92,0%. Најнижа ефикасност у огледу, установљена је у варијанти са крезоксим-метилом (препарат Lunar у конц. 0,03%), где је ефикасност, како на гроздовима, тако и на листовима била мања од 10% и интензитет обољења у овој варијанти није се статистички значајно разликовао у односу на контролну варијанту.



Слика 11. Изглед листова у контроли (а) и третману Lunar (б) (лок. Нештин, 2022. година)

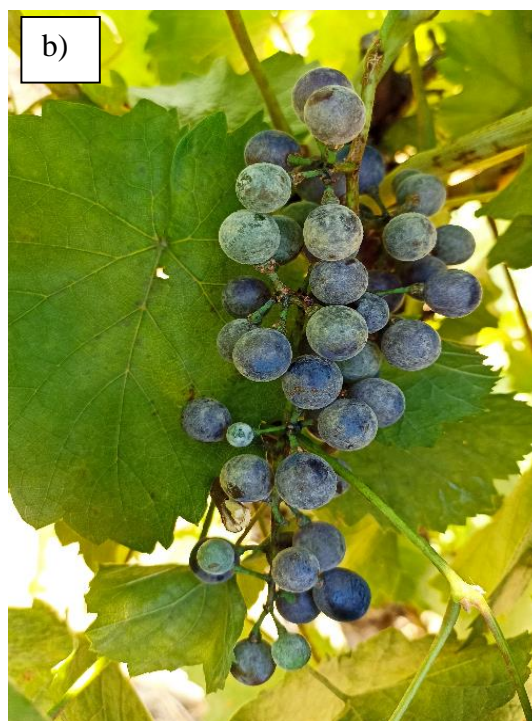
Табела 27. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2022. године на локалитету Нештин

Нештин (Оцене на гроздовима изведене 18.07. и 04.08, на листовима 04.08)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	55,79a	/	69,02a	/	60,08a	/
2	Cidely Top®	0,1	3,69e	92,5	5,6g	91,2	2,93efg	94,9
3	Kusabi®	0,03	3,04e	94,1	4,98g	92,6	3,44ef	94,2
4	Sercadis®	0,015	0,0f	100,0	0,0i	100,0	1,4fg	97,6
5	Lunar®	0,03	52,3a	2,8	61,29b	9,4	56,39a	6,4
6	Strix®	0,08	2,13e	96,0	4,25g	93,7	2,48efg	95,8
7	Luna® Max	0,1	0,26f	99,4	1,47h	97,8	1,28g	97,8
8	Sekvenca®	0,02	13,18d	75,9	21,84e	68,0	39,13b	34,8
9	Cyflamid® 5 EW	0,05	4,03e	92,2	6,8fg	89,7	3,97e	93,3
10	Topas® 100 EC	0,025	35,95b	31,7	45,77c	32,2	57,11a	4,7
11	Talendo®	0,025	4,75e	90,6	9,93f	84,9	31,79c	47,0
12	Kumulus® DF	0,7	23,45c	54,7	29,42d	55,9	8,56d	85,7

У последњој години испитивања (2023. години), на локалитету Нештин, испитано је укупно 8 варијанти (укључујући и контролу), а варијанте које нису испитиване претходних година на овом локалитету, испитиване су током ове године: Inсајder (конц. 0,03% и 0,05%), Revуона (конц. 0,13%), Flosul (конц. 0,7%). Оцене на гроздовима су изведене 11.07. и 24.07.2023. године, када је изведена и оцена на листовима. Интензитет обољења у контроли био је висок, и кретао се од 53,5 до 62,93% на гроздовима, односно 58,46% на листовима. Процент гроздова са симптомима обољења у контролној варијанти био је преко 90% (Табела 28, Прилог 4, Графикон П4-4).

Висока ефикасност у сузбијању *E. necator* забележена је, како на гроздовима, тако и на листовима применом следећих фунгицида: флуопирам (препарат Inсајder у конц. 0,05%) (98,5-99,5% на гроздовима, 94,9% на листовима), флуксапироксад (98,1-99,2% на гроздовима, 95,2% на листовима), мефентрифлуконазол (98,6-99,7% на гроздовима, 96,4% на листовима), спироksamин (96,0-98,7% на гроздовима, 92,6% на листовима) и комбинација флуопирам + спироksamин (97,3-98,7% на гроздовима, 94,6% на листовима).

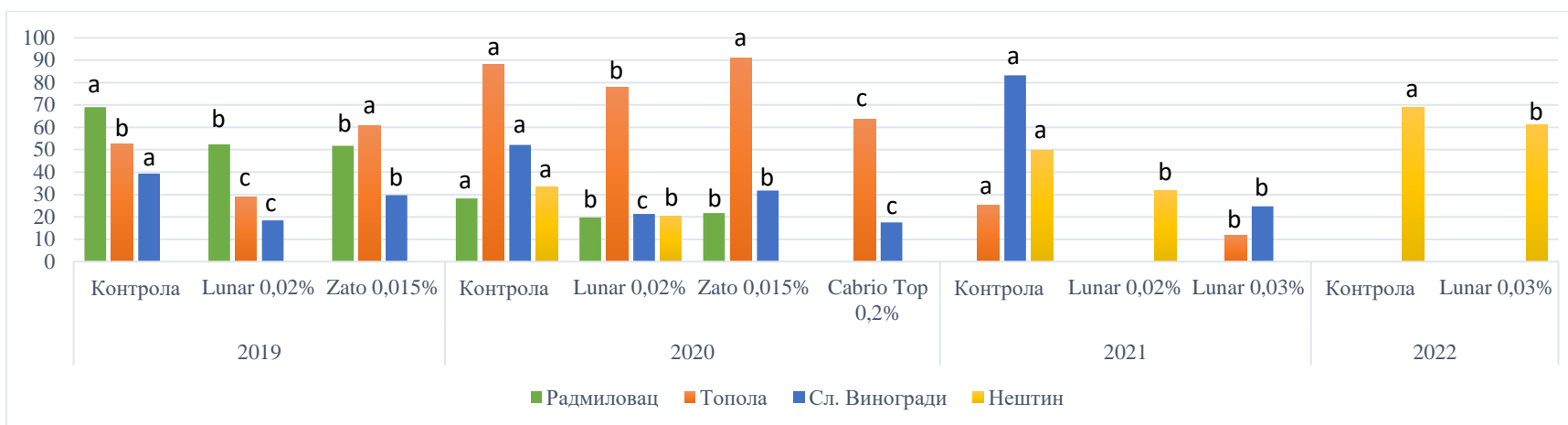
Висока ефикасност постигнута је и применом флуопирама (препарат Inсајder у конц. 0,03%) и сумпора (препарат Flosul у конц. 0,7%), али се њихова ефикасност статистички значајно разликовала од претходних варијанти. Флуопирам (конц. 0,03%) је испољио ефикасност од 90,9 до 93,3% на гроздовима и 88,0% на листовима, док је сумпор испољио ефикасност од 88,9 до 92,8% на гроздовима и 91,3% на листовима.



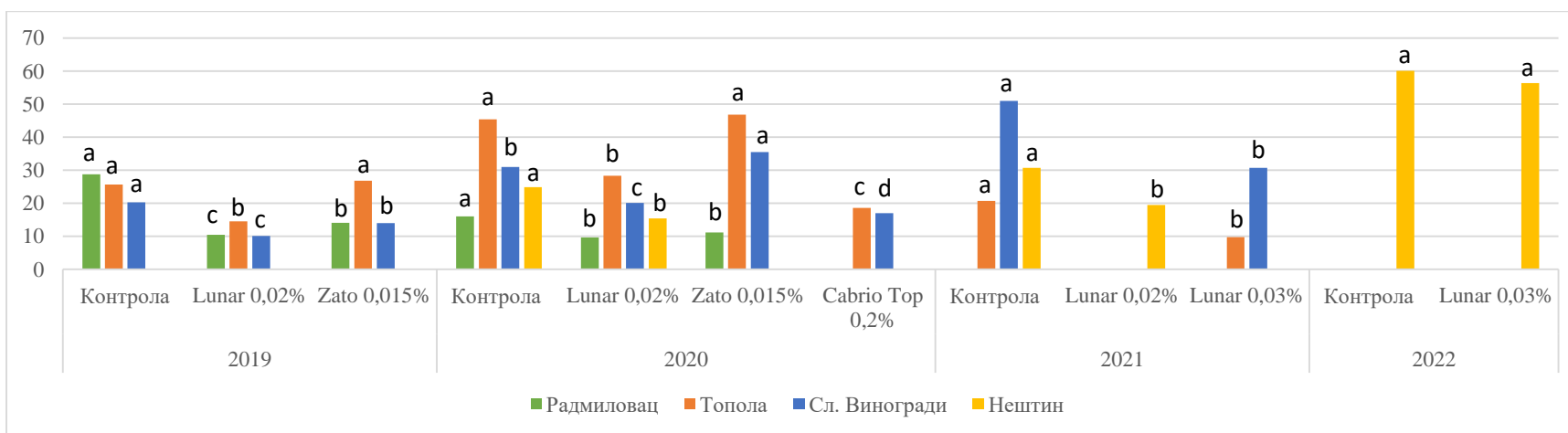
Слика 12. Изглед гроздова у контроли (а) и третману Торас 100ЕС (б) (лок. Нештин, 2022. година)

Табела 28. Интензитет обољења и ефикасност фунгицида у огледима изведеним 2023. године на локалитету Нештин.

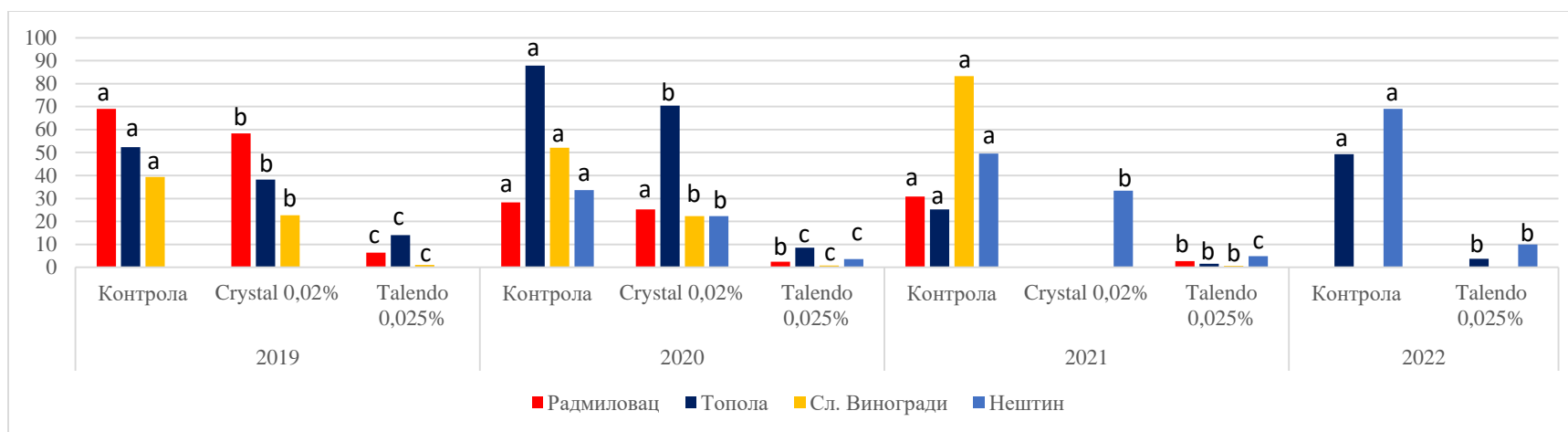
Нештин (Оцене на гроздовима изведене 11.07. и 24.07, на листовима 24.07)								
No	Варијанта	Конц. (%)	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	53,50a	/	62,93a	/	58,46a	/
2	Insajder	0,03	3,57b	93,3	5,71b	90,9	7,04b	88,0
3	Insajder	0,05	0,29b	99,5	0,93c	98,5	2,96cd	94,9
4	Sercadis®	0,015	0,43b	99,2	1,21c	98,1	2,82cd	95,2
5	Revyona®	0,13	0,14b	99,7	0,86c	98,6	2,11d	96,4
6	Strix®	0,08	0,71b	98,7	2,50c	96,0	4,32cd	92,6
7	Luna® Max	0,1	0,71b	98,7	1,71c	97,3	3,18cd	94,6
8	Flosul®	0,7	3,86b	92,8	7,0b	88,9	5,11bc	91,3



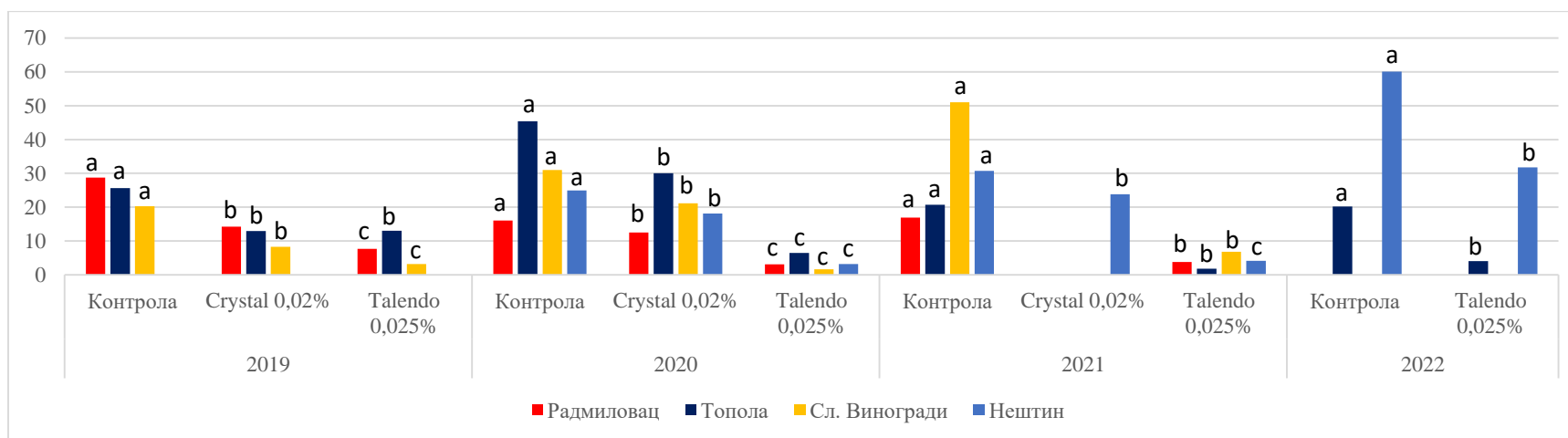
Графикон 2. Интензитет обољења на гроздовима у другој оцени у контролним варијантама и варијантама са QoI фунгицидима на испитиваним локалитетима



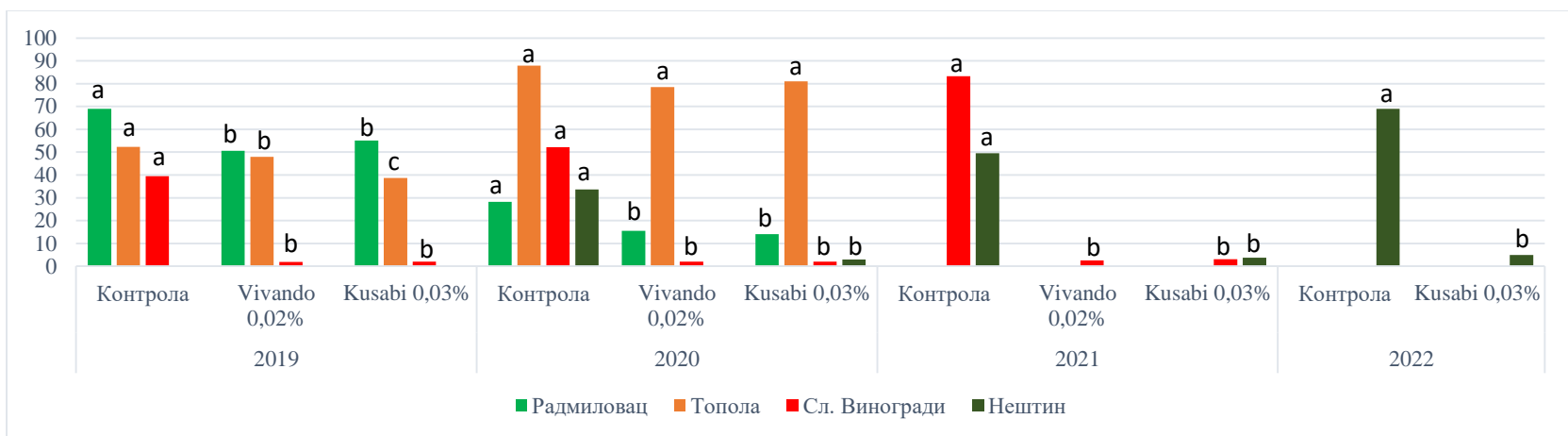
Графикон 3. Интензитет обољења на листовима у контролним варијантама и варијантама са QoI фунгицидима на испитиваним локалитетима



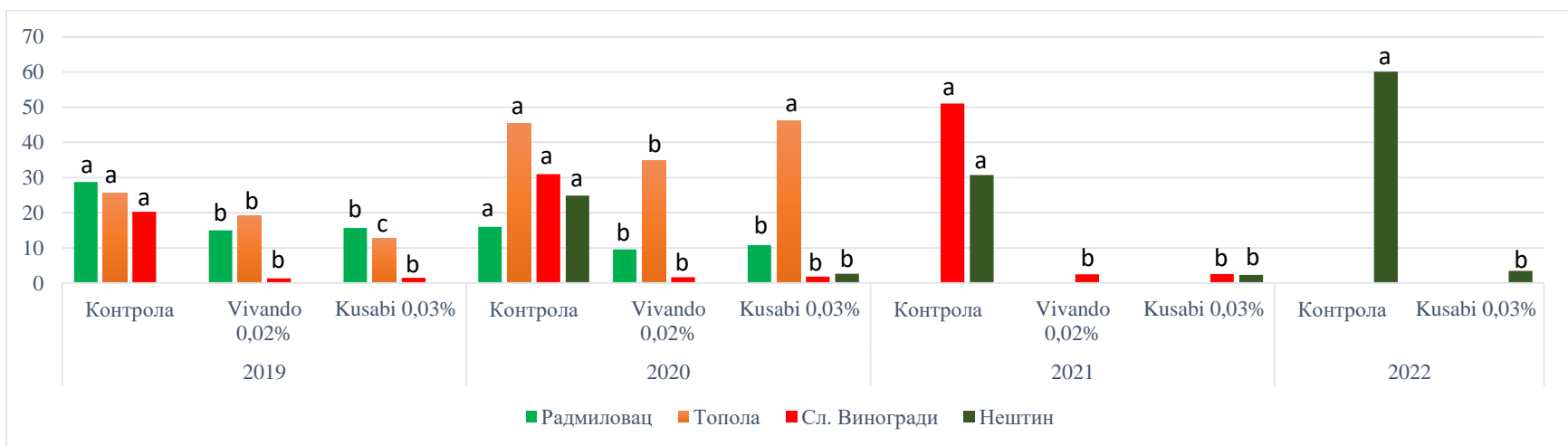
Графикон 4. Интензитет обољења на гроздовима у другој оцени у контролним варијантама и варијантама са фунгицидима из групе азанафталена на испитиваним локалитетима



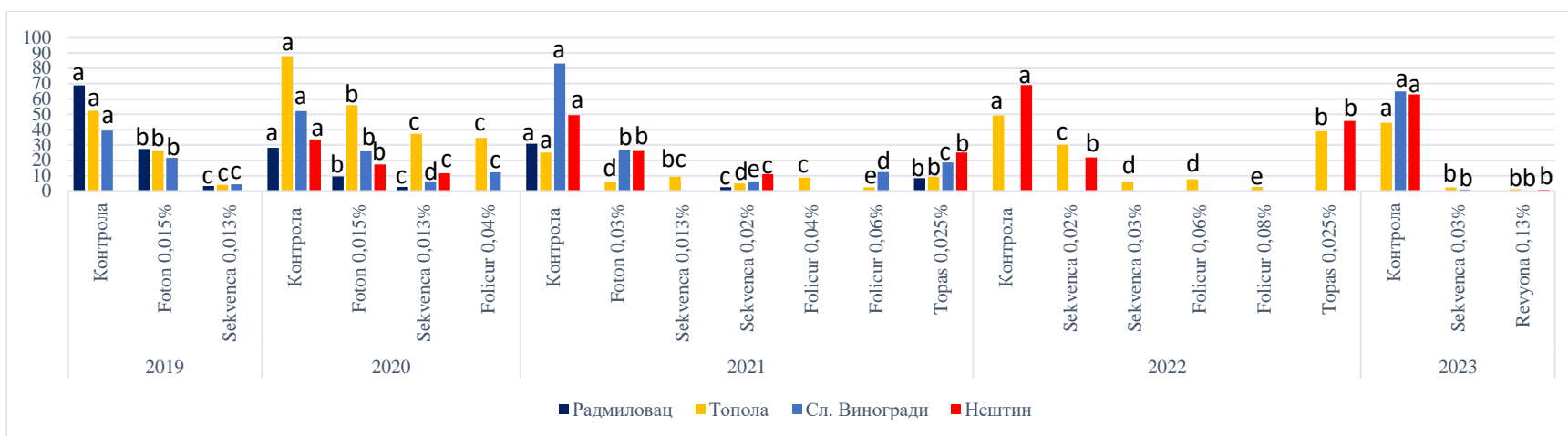
Графикон 5. Интензитет обољења на листовима у контролним варијантама и варијантама са фунгицидима из групе азанафталена на испитиваним локалитетима



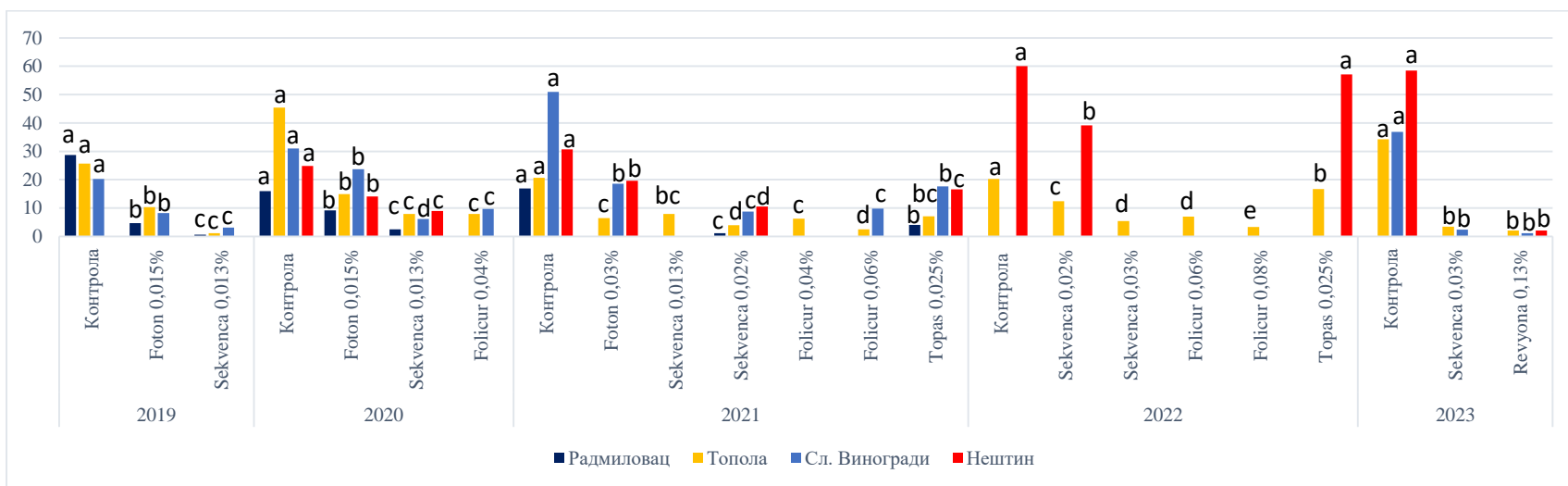
Графикон 6. Интензитет обољења на гроздовима у другој оцени у контролним варијантама и варијантама са фунгицидима из групе арил-фенил кетона на испитиваним локалитетима



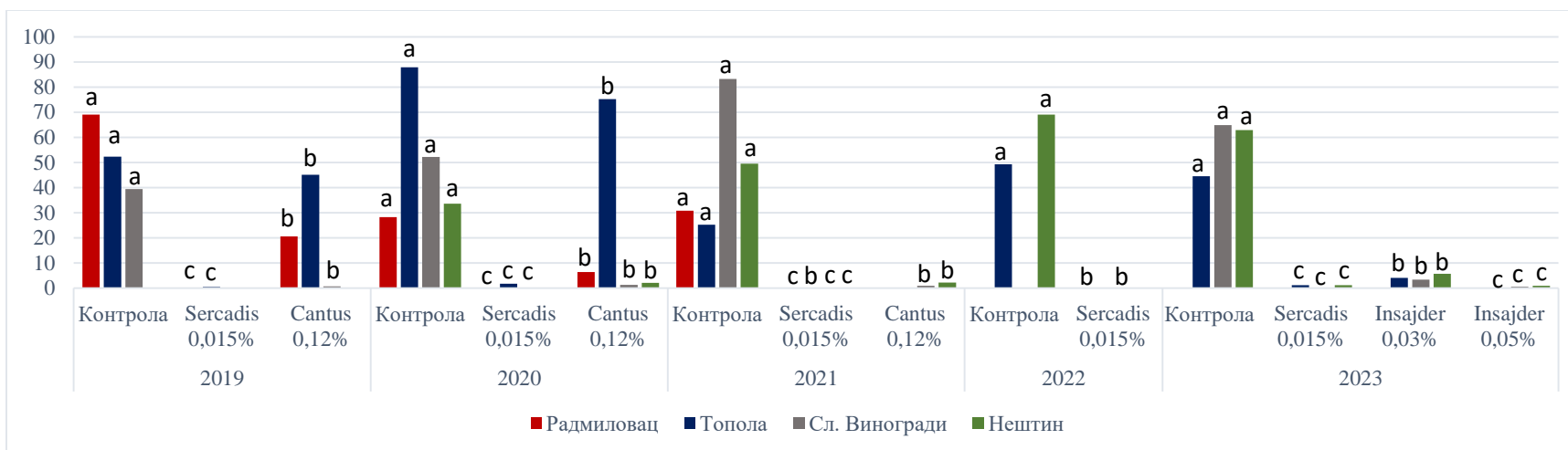
Графикон 7. Интензитет обољења на листовима у контролним варијантама и варијантама са фунгицидима из групе арил-фенил кетона на испитиваним локалитетима



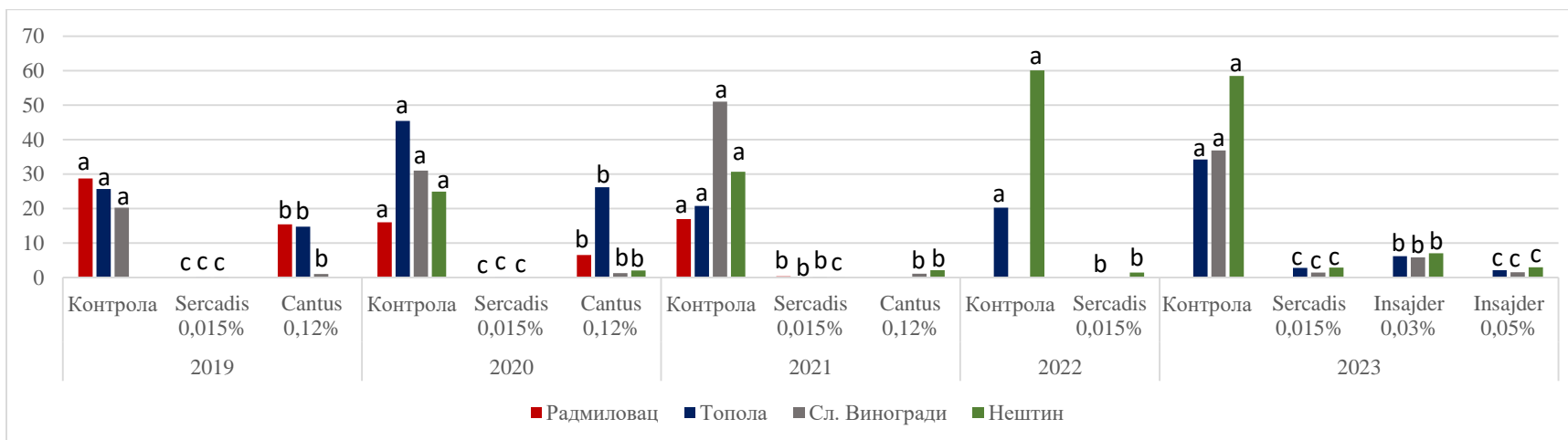
Графикон 8. Интензитет обољења на гроздовима у другој оцени у контролним варијантама и варијантама са DMI фунгицидима на испитиваним локалитетима



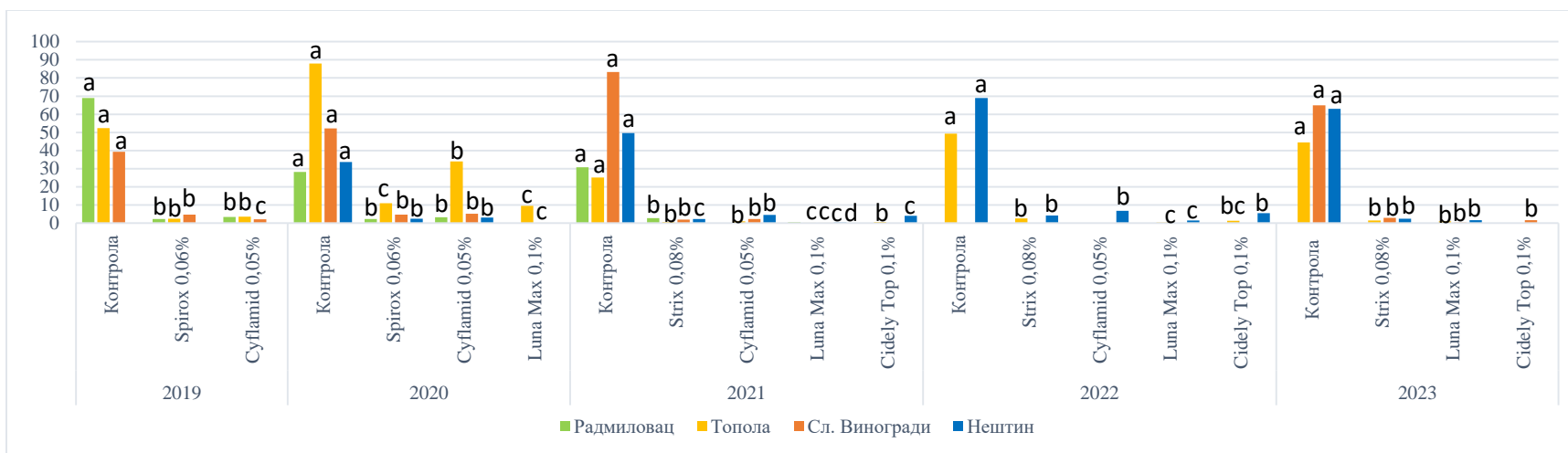
Графикон 9. Интензитет обољења на листовима у контролним варијантама и варијантама са DMI фунгицидима на испитиваним локалитетима



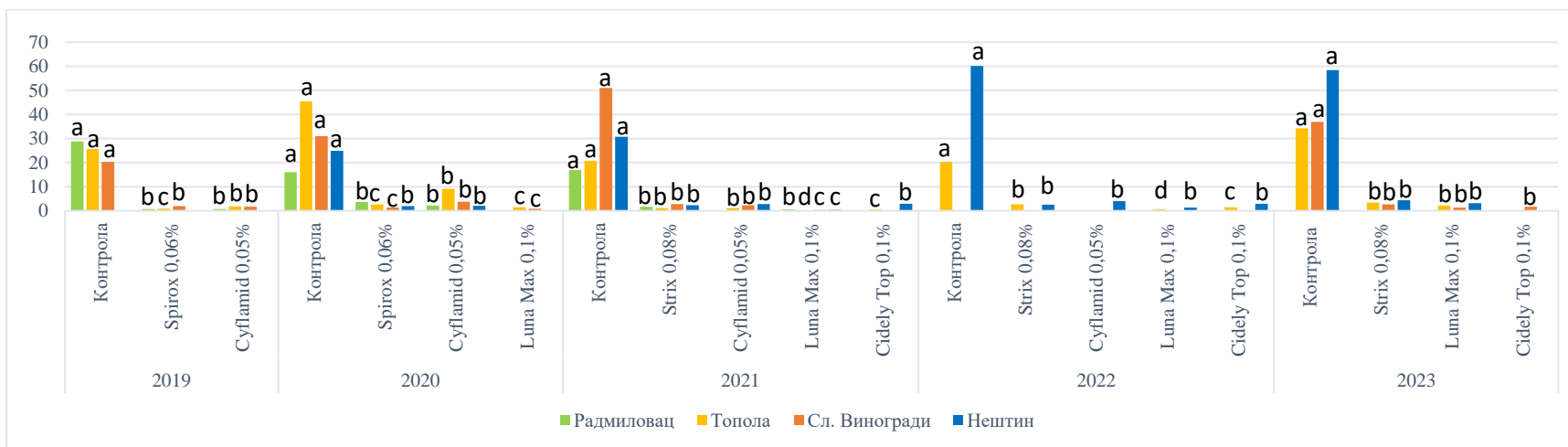
Графикон 10. Интензитет обољења на гроздовима у другој оцени у контролним варијантама и варијантама са SDHI фунгицидима на испитиваним локалитетима



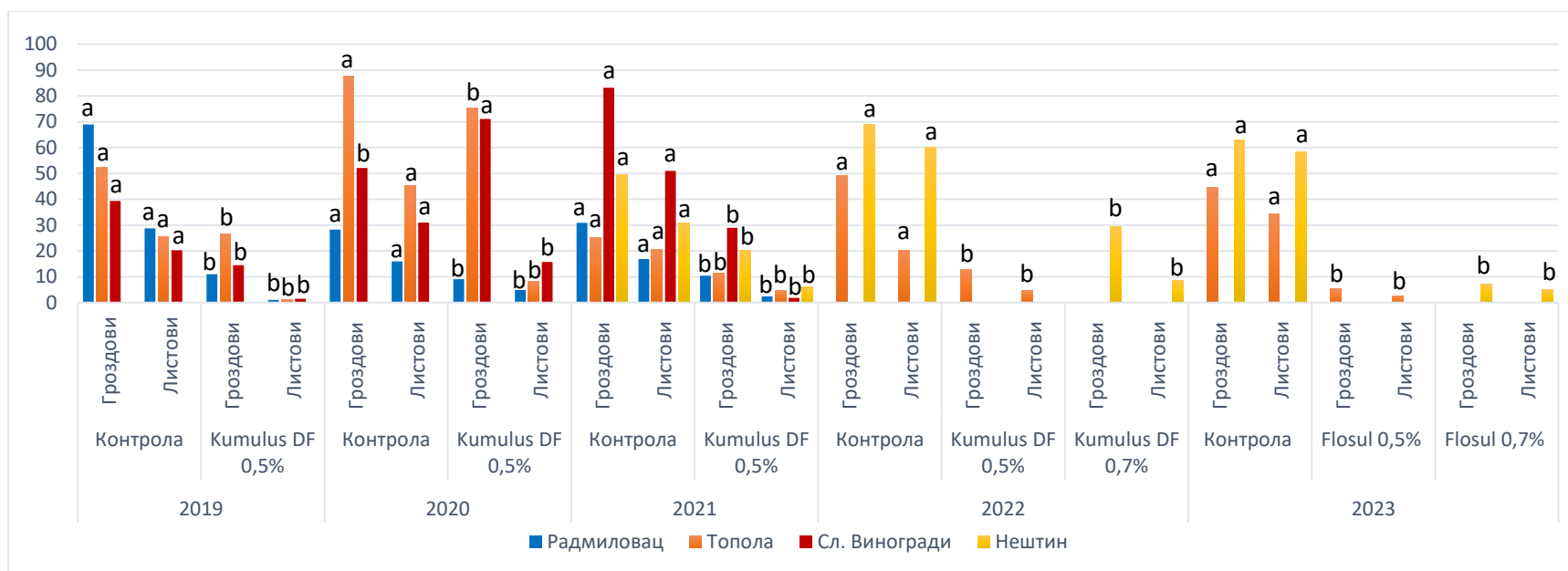
Графикон 11. Интензитет обољења на листовима у контролним варијантама и варијантама са SDHI фунгицидима на испитиваним локалитетима



Графикон 12. Интензитет обољења на гроздовима у другој оцени у контролним варијантама и варијантама са фунгицидима на бази спироксамина и цифлуфенамида, као и њихових комбинација на испитиваним локалитетима



Графикон 13. Интензитет обољења на листовима у контролним варијантама и варијантама са фунгицидима на бази спироксамина и цифлуфенамида, као и њихових комбинација на испитиваним локалитетима



Графикон 14. Интензитет обољења на гроздовима и листовима у контролним варијантама и варијантама са сумпором на испитиваним локалитетима

5.1.2. Ефекти различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице (*E. necator*)

У периоду од 2020. до 2022. године, на локалитетима Топола, Сланкаменачки Виногради и Нештин, вршена су испитивања различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице. На локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради огледи су изведени током 2020. и 2021. године, док су на локалитету Нештин изведени током 2021. и 2022. године.

На локалитету Топола, 2020. године, испитани су ефекти пет различитих модела, и стандардног програма заштите винове лозе од *E. necator*. Изведене су две оцене на гроздовима (23.07. и 07.08.2020. године) и једна оцена на листовима (07.08.2020. године). У контролној варијанти забележен је висок интензитет обољења, који се на гроздовима кретао од 76,90 до 87,89%, и где је у другој оцени на 100% гроздова установљено присуство симптома пепелнице. На листовима интензитет обољења био је 45,4% (Табела 29; Прилог 5, Графикон П5).

Најбољи ефекти утврђени су код модела 5 где је изведено укупно 8 третирања (од фенофазе 4-6 отворених листова до затварања грозда) и где је забележена ефикасност 89,7-93,7% на гроздовима, односно 98,1% на листовима. У поређењу са стандардним програмом заштите, није утврђена статистички значајна разлика. Код стандардног програма заштите, ефикасност на гроздовима кретала се од 92,9 до 93,9%, а на листовима је забележена нешто већа ефикасност (99,5%) у односу на модел 5. Висока ефикасност забележена је и у моделима 3 и 4 где је укупно изведено 6 (од фенофазе отворено 4-6 листова до бобице величине зрна грашка), односно 7 третирања (као код модела 3 уз једно више третирање до почетка додиривања бобица) и ове варијанте се међусобно нису статистички значајно разликовале у погледу ефикасности, како на гроздовима, тако и на листовима. Код модела 3 утврђена је ефикасност 86,8-92,8% на гроздовима и 97,3% на листовима, док су код модела 4 слични ефекти забележени на гроздовима (87,0-92,9%), али је нешто већа ефикасност била на листовима (98,2%).

Задовољавајућа ефикасност у првој оцени на гроздовима и у оцени на листовима, забележена је код модела 2 (82,7% на гроздовима, 84,4% на листовима), где је изведено укупно 5 третирања (од фенофазе диференцијација цвасти до бобице величине зрна грашка) и ова варијанта се статистички значајно разликовала у односу на претходне. С друге стране, у другој оцени на гроздовима забележено је драстично смањење ефикасности (67,9%). Најнижа ефикасност утврђена је код модела 1, где је изведено укупно 4 третирања (од фенофазе цвасти набубреле, пред цветање, до бобице величине зрна грашка), и ова варијанта се статистички значајно разликовала у односу на све остале. Ефикасност на гроздовима била је 47,2-64,3%, а на листовима 67,9%.

У другој години истраживања, а на основу резултата компаративне ефикасности из 2020. године, на локалитету Топола одабрани су нешто другачији фунгициди и измењен је њихов распоред у оквиру модела. Тестирано је укупно 6 модела, као и варијанта где је спроведен стандардни програм заштите винове лозе од проузроковача пепелнице. Прва оцена на гроздовима изведена је 05.08., а друга 16.08.2021. године, када је изведена и оцена на листовима. Интензитет обољења у контроли, био је знатно нижи него 2020. године и кретао се од 20,31 до 25,2 на гроздовима, а око 73% гроздова са симптомима обољења уочено је у другој оцени. На листовима, интензитет обољења износио је 20,71% (Табела 30; Прилог 5, Графикон П5).

Висока ефикасност забележена је код сваког примењеног модела, али су утврђене одређене разлике међу моделима. Максимална ефикасност на гроздовима (100%), у обе оцене, утврђена је код модела 3 и 4 где је спроведено укупно 6, односно 7 третирања (од фенофазе отворено 4-6 листова до бобице величине зрна грашка, односно до почетка додиривања бобица). Истој групи према ефикасности на гроздовима припадао је и модел 5 (укупно 8 третирања), са ефикасношћу која је у првој оцени била 100%, а у другој 98,7%. Статистички значајна разлика у односу на ове моделе, забележена је код модела 1 (4 третирања), 2 (5 третирања) и 6 (8 третирања), као и стандардног програма заштите (8 третирања). Спровођењем стандардног програма заштите, остварена је висока ефикасност 97,2-97,9% на гроздовима. Нешто нижа, али висока ефикасност на гроздовима забележена је код модела 6 (95,9-96,3), модела 2 (96,0-100,0%) и модела 1 (94,7-95,1%). Најбољи ефекти на листовима у сузбијању проузроковача пепелнице, остварени су применом модела 4 (99,5%) и 5 (98,3%), а нешто нижа ефикасност забележена је код модела 3 (97,3%). Статистички значајно нижа ефикасност на листовима, у односу на претходне моделе, забележена је код модела 2 (94,0%) и модела 6 (92,9%), а варијанта стандардни програм заштите се налазила у истој групи са ова два модела, и ефикасност је била 94,8%. Најнижа ефикасност на листовима, утврђена је код модела 1 (91,7%).

На локалитету Сланкаменачки Виногради, током 2020. и 2021. године, такође су вршена испитивања ефеката различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице. Током прве године испитивања, тестирани су ефекти укупно пет модела, као и ефекти стандардног програма заштите. Одабир и распоред фунгицида у оквиру модела био је идентичан као и у огледу из 2020. године на локалитету Топола. Прва оцена на гроздовима изведена је 22.07, а друга оцена на гроздовима, као и оцена на листовима 06.08.2020. године. Интензитет обољења на гроздовима, у контроли, кретао се од 39,92 до 52,15%, а на 91% гроздова су утврђени симптоми обољења. Интензитет обољења на листовима био је 31,0% (Табела 30; Прилог 5, Графикон П5).

Најбољи ефекти у заштити винове лозе од проузроковача пепелнице, запажени су код модела 4 где је спроведено укупно седам третирања (од фенофазе 4-6 отворених листова до почетак додиривања бобица), како на гроздовима, тако и на листовима. Применом овог модела заштите, ефикасност на гроздовима била је 98,5-99,5%, а на листовима 97,6%. Применом стандардног програма заштите, где је изведено укупно 8 третирања, остварена је нешто нижа ефикасност у односу на модел 4. На гроздовима ефикасност је била у осегу 93,7-94,6% и није статистички значајно разликовала у односу на модел 4. Међутим, на листовима ефикасност стандардног програма заштите била је статистички значајно нижа (90,2%). На гроздовима и листовима није било статистички значајне разлике између модела 3 (95,5-98,6% на гроздовима, 92,6% на листовима) и модела 4. Висока ефикасност на гроздовима и листовима забележена је и код модела 2 (94,7-97,9% на гроздовима, 90,3% на листовима) и модела 5 (95,1-96,7% на гроздовима, 92,2% на листовима). Најнижа ефикасност утврђена је код модела 1 и она се статистички значајно разликовала у односу на најнефикаснији модел. На гроздовима, код модела 1, забележена је ефикасност од 92,5 до 94,2%, док је на листовима ефикасност износила 86,9%.

Табела 29. Ефекти различитих модела заштите винове лозе од *E. necator*, 2020. и 2021. година, локалитет Топола

Топола (Оцене на гроздовима изведене 23.07.2020. и 07.08. 2020., на листовима 07.08. 2020.)								
No	Варијанта	Број третирања	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	76,9a	/	87,89a	/	45,4a	/
2	Модел 1	4	27,33b	64,3	45,98b	47,2	14,54b	67,9
3	Модел 2	5	13,01c	82,7	33,54c	61,5	7,05c	84,4
4	Модел 3	6	5,39d	92,8	11,44d	86,8	1,2d	97,3
5	Модел 4	7	5,35d	92,9	11,1d	87,0	0,78d	98,2
6	Модел 5	8	4,7d	93,7	8,91de	89,7	0,8d	98,1
7	Стд. програм заштите	8	4,63d	93,9	6,18e	92,9	0,15e	99,5

Топола (Оцене на гроздовима изведене 05.08.2021. и 16.08.2021., на листовима 16.08.2021.)								
No	Варијанта	Број третирања	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	20,31a	/	25,2a	/	20,71a	/
2	Модел 1	4	0,97b	95,1	1,34b	94,7	1,65b	91,7
3	Модел 2	5	0,0d	100,0	0,84b	96,0	1,15bc	94,0
4	Модел 3	6	0,0d	100,0	0,0c	100,0	0,48cd	97,3
5	Модел 4	7	0,0d	100,0	0,0c	100,0	0,05e	99,5
6	Модел 5	8	0,0d	100,0	0,14c	98,7	0,24de	98,3
7	Модел 6	8	0,73bc	96,3	1,03b	95,9	1,33bc	92,9
8	Стд. програм заштите	8	0,42c	97,9	0,71b	97,2	1,06bc	94,8

Друге године истраживања (2021. године), на локалитету Сланкаменачки Виногради, испитани су ефекти шест модела и стандардног програма заштите. За разлику од претходне године, а на основу резултата компаративне ефикасности огледа из 2020. године, у програм је уместо препарата Karathane Gold 300 ЕС укључен препарат Vivando, док је препарат Sekvenca примењен у већој концентрацији од препоручене, односно у концентрацији 0,02%. Оцене на гроздовима су изведене 18.07. и 01.08.2021. године, а оцена на листовима је изведена 08.08.2021. године. Интензитет обољења у контроли био је виши него претходне године и кретао се од 54,1 до 83,25%. У другој оцени на 100% гроздова у контролној варијанти примењени су симптоми пепелнице. Интензитет обољења на листовима био је 51,01% (Табела 30; Прилог 5, Графикон П5).

Сви испитивани модели испољили су високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе. Између тестираних модела, није утврђена статистички значајна разлика у погледу ефикасности на гроздовима. Највећа ефикасност на гроздовима забележена је код модела 4 (98,5-98,6%) и модела 5 (98,5-98,7%), где је изведено укупно 7, односно 8 третирања (од фенофазе отворено 4-6 листова до почетак додиривања бобица, односно до затварања грозда). Висока ефикасност на гроздовима постигнута је и применом модела 1 (96,9-97,3%), модела 2 (97,8-98,3%), модела 3 (97,7-98,8%) и модела 6 (96,1-96,8%). Стандардним програмом заштите обезбеђена је висока ефикасност како на гроздовима (95,9-96,7%), тако и на листовима (93,7%). Највећа ефикасност на листовима забележена је код модела 5 (97,0%), а високом ефикасношћу се одликовао и модел 6 (92,5%). Статистички значајно ниже ефикасности су утврђене применом модела 4 (85,6%), модела 3 (84,7%) и модела 2 (83,0%), док је најнижа ефикасност на листовима забележена применом модела 1 (78,5%).

На локалитету Нештин, током 2021. и 2022. године вршена су слична испитивања као и на претходна два локалитета. У огледу спроведеном током 2021. године, тестирани су ефекти шест модела заштите, као и ефекти стандардног програма заштите. Оцене су изведене 23.07 и 06.08.2021. године на гроздовима, а на листовима када је извршена друга оцена на гроздовима. Интензитет обољења у контроли на гроздовима кретао се од 35,71 до 49,57%. На листовима интензитет обољења био је 30,75% (Табела 31).

Највећа ефикасност у сузбијању *E. necator* на гроздовима и листовима забележена је извођењем стандардног програма заштите (укупно 8 третирања). Ефикасност овог програма на гроздовима била је у оспегу 99,4-100%, док је на листовима износила 97,0%. Висока ефикасност на гроздовима и листовима, постигнута је код модела 4 и 5. Код ова два модела, ефикасност на гроздовима кретала се од 92,7 до 94,4% (модел 4), односно 91,2-93,2 (модел 5). На листовима ефикасност је била нешто нижа, односно 86,8% (модел 4) и 88,4% (модел 5). Нешто нижа, али висока ефикасност, установљена је код модела 3 и модела 2, и на гроздовима се кретала од 90,3 до 92,4% (модел 3), односно 88,3-91,2% (модел 2). Ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на листовима извођењем модела 3 је била задовољавајућа (81,9%), док је применом модела 2 била статистички значајно нижа (71,5%). Слични ефекти, као и код модела 2, остварени су применом модела 6, где је ефикасност на гроздовима била 86,5-88,6%, али је на листовима забележена значајно нижа ефикасност (77,0%). Најнижа ефикасност и на гроздовима и на листовима, забележена је применом модела 1, и овај модел се статистички значајно разликовао од осталих варијанти (осим модела 6). На гроздовима, ефикасност се кретала од 80,4 до 84,8%, док је на листовима била значајно нижа (67,8%).

Табела 30. Ефекти различитих модела заштите винове лозе од *E. necator*, 2020. и 2021. година, локалитет Сланкаменачки Виногради

Сланкаменачки Виногради (Оцене на гроздовима изведене 22.07.2020. и 06.08. 2020., на листовима 06.08. 2020.)								
No	Варијанта	Број третирања	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	39,92a	/	52,15a	/	31,0a	/
2	Модел 1	4	2,21b	94,2	3,86b	92,5	4,03b	86,9
3	Модел 2	5	0,79b	97,9	2,57bc	94,7	3,01bc	90,3
4	Модел 3	6	0,55b	98,6	2,35bc	95,5	2,27cd	92,6
5	Модел 4	7	0,16b	99,5	0,74c	98,5	0,71d	97,6
6	Модел 5	8	1,25b	96,7	2,47bc	95,1	2,39bc	92,2
7	Стд. програм заштите	8	2,14b	94,6	3,29bc	93,7	3,04bc	90,2

Сланкаменачки Виногради (Оцене на гроздовима изведене 18.07.2021. и 01.08.2021., на листовима 08.08.2021.)								
No	Варијанта	Број третирања	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	54,1a	/	83,25a	/	51,01a	/
2	Модел 1	4	1,35b	97,3	2,57b	96,9	10,55b	78,5
3	Модел 2	5	0,9b	98,3	1,73b	97,8	8,14b	83,0
4	Модел 3	6	0,65b	98,8	1,85b	97,7	7,47b	84,7
5	Модел 4	7	0,57b	98,6	1,18b	98,5	7,21bc	85,6
6	Модел 5	8	0,64b	98,7	1,25b	98,5	1,13e	97,0
7	Модел 6	8	1,72b	96,1	2,53b	96,8	3,79cd	92,5
8	Стд. програм заштите	8	1,93b	95,9	2,69b	96,7	3,19de	93,7

У другој години истраживања (2022. године), на локалитету Нештин, испитивани су слични модели, као претходне године, с тим да су у оглед укључене још две додатне контроле. Поред стандардне контроле (контрола 1), која није третирана од почетка, контрола 2 је служила да се утврди колики је значај првог третирања у заштити винове лозе од проузроковача пепелнице, односно да ли ово третирање има ефекта у редуковању обољења, док је контрола 3 служила да се утврди да ли постоје било какви ефекти уколико се са заштитом од *E. necator* крене од прецветавања, односно да ли куративна примена фунгицида може да обезбеди задовољавајућу заштиту од *E. necator*. Прва оцена на гроздовима изведена је 18.07.2022. године, а друга оцена на гроздовима, као и оцена на листовима 04.08.2022. године. Интензитет обољења у контроли 1 на гроздовима кретао се од 55,79 до 69,02%, док се у контроли 2 и контроли 3 кретао од 39,91 до 56,15%, односно 28,66 до 42,25%. На листовима интензитет обољења био је 60,08% (контрола 1), 51,79% (контрола 2) и 35,68% (контрола 3). Процент заражених гроздова, тј. гроздова са симптомима обољења у контроли 1 достигао је 99% у другој оцени, у контроли 2 97%, а у контроли 3 око 80% (Табела 31; Прилог 5, Графикон П5).

Највећа ефикасност у сузбијању *E. necator* постигнута је применом стандардног програма заштите, и ова варијанта се статистички значајно разликовала од осталих по ефикасности на гроздовима (96,2-99,1%). На листовима стандардни програм заштите и модел 5 нису се статистички значајно разликовали по ефикасности, тј. разлике су биле минималне, обзиром да је код модела 5 забележена ефикасност око 86% на листовима, док је у стандардном програму заштите била око 90%. Када се говори о ефикасности модела, најбољи ефекти постигнути су применом модела 5 са ефикасношћу 86,7-89,8% на гроздовима, док је нешто слабија ефикасност на гроздовима у односу на овај модел, установљена код модела 2 (79,8-88,3%), модела 3 (80,3-88,2%), модела 4 (81,0-91,25) и модела 6 (82,8-84,7%). Од наведених модела само је применом модела 4 забележена добра ефикасност на листовима (81,3%), док је код осталих била између 69,7 (модел 2) и 74,0% (модел 3). Применом модела 1 запажена је најслабија ефикасност на гроздовима (63,4-67,8%), и ова варијанта се статистички значајно разликовала у односу на све остале. На листовима, применом овог модела ефикасност је била 70,8%.

5.1.2.1 Економска анализа модела заштите

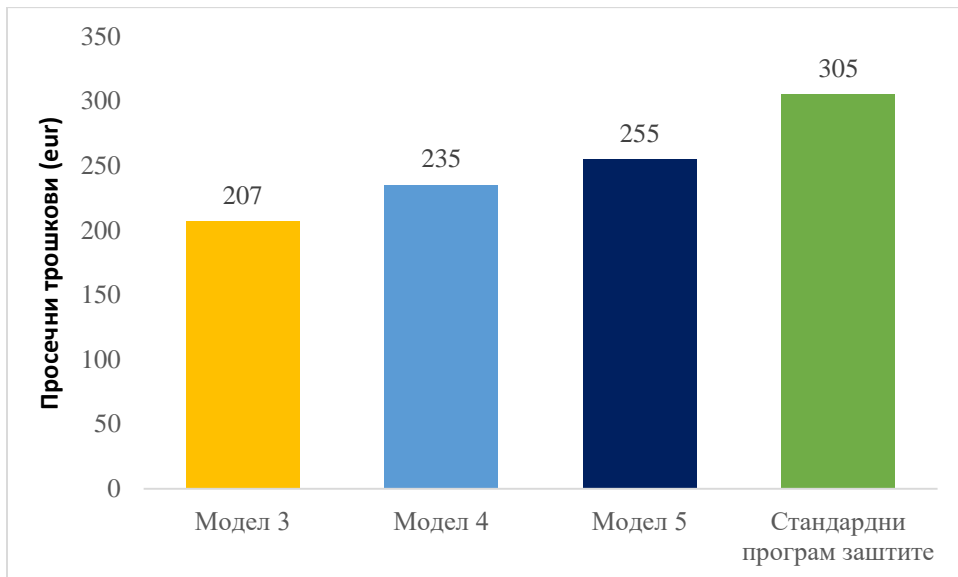
На основу резултата добијених у огледима чији је циљ био испитивање ефеката различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, најефикаснији модели одабрани су за економску анализу. Модели који су одабрани за ову анализу, били су: модел 3, модел 4 и модел 5. Укупни трошкови (цена препарата, цена горива и сатница радника) ових модела по хектару, поређени су са трошковима стандардног програма заштите (Табела 32). Упоредном анализом, утврђено је да је најекономичнији модел заштите био је модел 3, са укупном ценом трошкова по јединици површине које је била у оспегу 22500-27488 динара (191,5-233,9 евра). Нешто већи укупни трошкови заштите били су код модела 4, и кретали су се од 26517 до 30167 динара (225,7-256,7 евра) по хектару, али није утврђена статистички значајна разлика између ова два модела у погледу трошкова. Статистички значајна разлика у погледу трошкова, забележена је између модела 3 и модела 5, али не и између модела 4 и модела 5. Укупни трошкови заштите применом модела 5 били су од 28830 до 30977 динара (245,4-263,6 евра) по јединици површине.

Табела 31. Ефекти различитих модела заштите винове лозе од *E. necator*, 2021. и 2022. година, локалитет Нештин

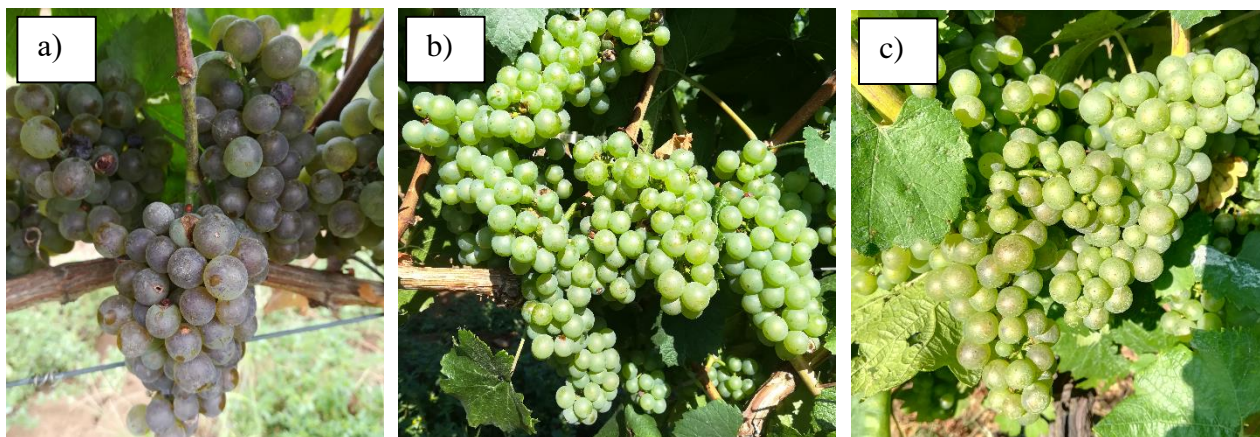
Нештин (Оцене на гроздовима изведене 23.07.2021. и 06.08. 2021., на листовима 06.08. 2021.)								
No	Варијанта	Број третирања	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	35,71a	/	49,57a	/	30,75a	/
2	Модел 1	4	5,42b	84,8	9,71b	80,4	9,89b	67,8
3	Модел 2	5	3,14bc	91,2	5,79c	88,3	8,75b	71,5
4	Модел 3	6	2,71bc	92,4	4,79c	90,3	5,57c	81,9
5	Модел 4	7	2,0cd	94,4	3,64cd	92,7	4,07cd	86,8
6	Модел 5	8	2,43cd	93,2	4,36cd	91,2	3,57cd	88,4
7	Модел 6	8	4,07bc	88,6	6,71bc	86,5	7,07bc	77,0
8	Стд. програм заштите	8	0,0d	100,0	0,29d	99,4	0,93d	97,0

Нештин (Оцене на гроздовима изведене 18.07.2022. и 04.08.2022., на листовима 04.08.2022.)								
No	Варијанта	Број третирања	Прва оцена на гроздовима		Друга оцена на гроздовима		Оцена на листовима	
			Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)	Инт. обољења (%)	Ефикасност (%)
1	Контрола	/	55,79a	/	69,02a	/	60,08a	/
2	Модел 1	4	16,38d	67,8	24,67d	63,4	17,25d	70,8
3	Модел 2	5	6,12e	88,3	13,54e	79,8	17,83d	69,7
4	Модел 3	6	5,56e	88,2	13,01e	80,3	15,42d	74,0
5	Модел 4	7	4,58e	91,2	12,29e	81,0	10,85e	81,3
6	Модел 5	7	5,06e	89,8	9,01e	86,7	8,28ef	85,8
7	Модел 6	7	8,19e	84,7	11,83e	82,8	16,75d	71,9
8	Контрола 2	3	39,91b	27,5	56,15b	17,5	51,79b	13,5
9	Стд. програм заштите	7	0,31f	99,1	2,51f	96,2	5,85f	90,2
10	Контрола 3	4	28,66c	46,1	42,25c	37,4	35,68c	40,2

Најмање економична варијанта била је стандардни програм заштите, која се статистички значајно разликовала у погледу трошкова у односу на остале варијанте. Код ове варијанте, укупни трошкови заштите били су у опсегу 31420-41757 динара (267,4-355,4 евра) по хектару. Просечни трошкови заштите модела 3 били су 24333 динара, односно 207 евра по хектару. Код модела 4 трошкови заштите су у просеку били већи за 3254 динара, односно 28 евра по хектару, док су код модела 5 у просеку били већи за 5586 динара, односно 48 евра по хектару (Графикон 15). Просечни трошкови стандардног програма заштите били су 35848 динара (305 евра), што је у просеку за 11515, 8261 и 5929 динара (98, 70 и 50 евра) више него код модела 3, 4 и 5.



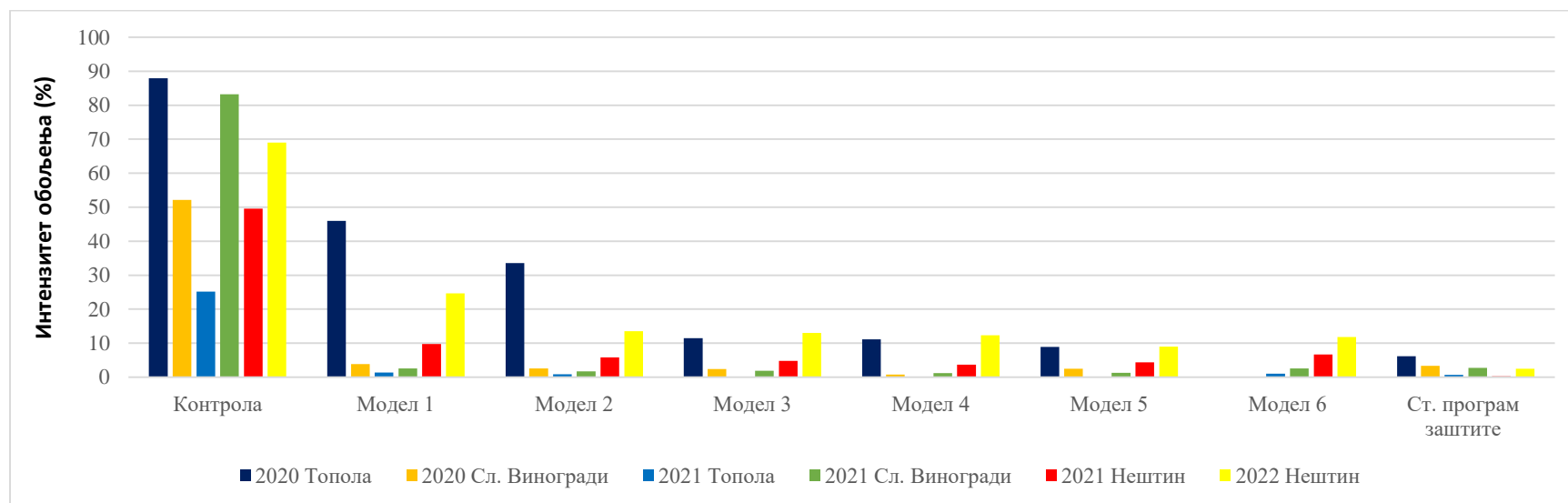
Графикон 15. Просечни трошкови (eur) модела и стандардног програма заштите винове лозе од *E. necator*



Слика 13. Изглед гроздова у контроли (а), моделу 5 заштите (б) и стандардном програму заштите (с) (лок. Сланкаменачки Виногради)

Табела 32. Приказ трошкова модела и стандардног програма заштите винове лозе од *E. necator*

Модел	Топола		Сланкаменачки Виногради		Нештин		Просек дин (eur)
	2020.	2021.	2020.	2021.	2021.	2022.	
	Укупни трошкови дин (eur)		Укупни трошкови дин (eur)		Укупни трошкови дин (eur)		
Модел 3	22500 (191,5)	24558 (209,0)	22500 (191,5)	24438 (208,0)	24513 (208,6)	27488 (233,9)	24333a (207)
Модел 4	26517 (225,7)	27950 (237,9)	26517 (225,7)	27829 (236,8)	26544 (226,5)	30167 (256,7)	27587ab (235)
Модел 5	28830 (245,4)	30801 (262,1)	28830 (245,4)	30681 (261,1)	29396 (250,2)	30977 (263,6)	29919b (255)
Стандардни програм заштите	31420 (267,4)	34791 (296,1)	31420 (267,4)	35516 (302,3)	40186 (342,0)	41757 (355,4)	35848c (305)



Графикон 16. Интензитет обољења на гроздовима у контролним варијантама и тестираним моделима заштите

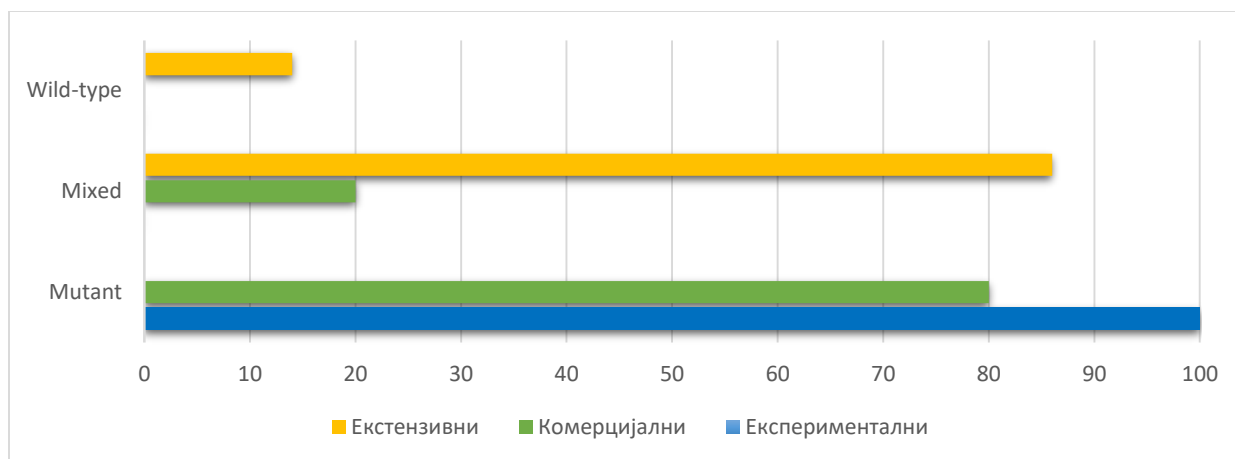
5.2 Осетљивост популација *E. necator* на QoI фунгициде у биотестовима са лисним дисковима и qPCR детекција G143A мутације

5.2.1 Детекција G143A алела за резистентност

За детекцију G143A мутације, прикупљено је и тестирано укупно 110 изолата у периоду од 2019. до 2022. године. Узорци су прикупљени из једног експерименталног, 13 комерцијалних, 5 екстензивних винограда и 3 винограда код којих није забележена претходна историје примене фунгицида. Детекција G143A мутације, као и одсуство нежељених продуката qPCR реакције потврђено је тзв. „melting-curve“ анализом (Слике 14 и 15). Изолати са процентом G143A алела за резистентност > 95% означени су као позитивни (Miles et al., 2012), док су они са < 5% овог алела означени као негативни. Код изолата, који потичу из подручја где није било историје примене фунгицида (8 изолата), G143A алел за резистентност није детектован (0%) или је детектован, али у јако ниском проценту (од 0,01 до 4,52%) од укупне митохондријалне DNK, и такви узорци су означени као тзв. „wild-type“, односно нормално осетљиви. Код узорака који су прикупљени из 10 од 13 комерцијалних винограда, позитивно је детектована мутација у високом проценту (G143A > 95%). У преостала 3 комерцијална винограда, мутација је детектована, али проценат алела за резистентност у митохондријалној DNK кретао се од 24 до 90%. У појединим узорцима детектовано је и 100% алела за резистентност, док „wild-type“ алел није детектован, што значи да се ради о популацијама са чистим мутантима. Узорци који су прикупљени из екстензивних винограда носили су G143A мутацију у митохондријалној DNK > 5%, једино узорци из Сремских Карловаца су имали < 3% алела за резистентност (Табела 33).

Код 100% изолата који воде порекло из експерименталног винограда, детектован је G143A алел за резистентност >95% митохондријалне DNK, док „wild-type“ и мешане („mix“) изолати нису детектовани. Изолати који воде порекло из комерцијалних винограда нису носили „wild-type“ алел, већ је код 80% изолата утврђено > 95% G143A алела за резистентност, док је 20% сврстано у категорију мешаних тј. „mix“. Изолати прикупљени из екстензивних винограда, нису носили G143A алел у високом проценту, тако да није било тзв. „mutant“ изолата, те је нешто више од 85% изолата сврстано је у категорију „mix“ (%G143A између 5 и 95%), док је око 15% изолата носило „wild-type“ алел (< 5% G143A) (Графикон 17).

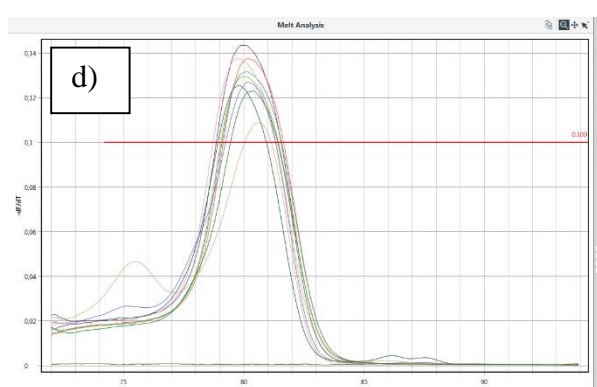
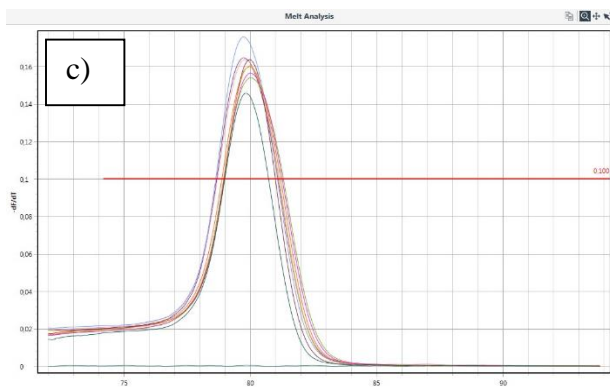
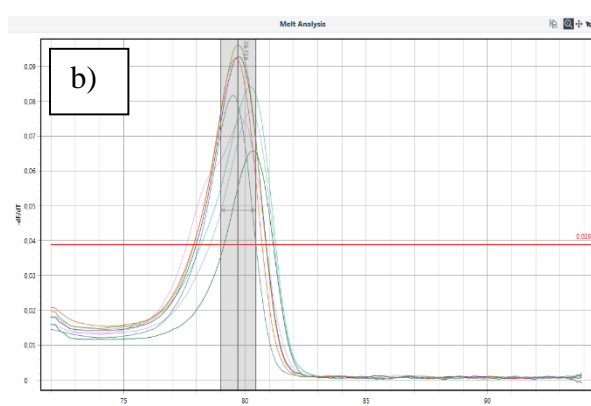
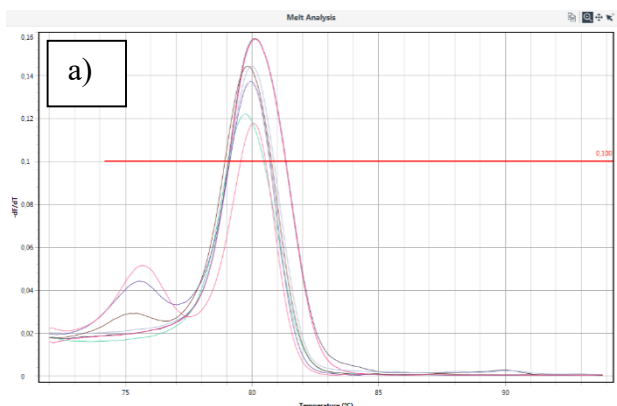
Укупно, 61,8% изолата (73 изолата) окарактерисано је као позитивно (мутанти) са > 95% G143A алела за резистентност, 9,1% изолата (10 изолата) је сврстано у категорију негативних („wild type“) са < 5% G143A алела. Трећој категорији, која је означена као „mix“, припадало је 29,1% изолата (27 изолата), и код њих се %G143A мутације кретао између 5 и 95%. Узорци са преко 95% алела за резистентност у митохондријалној DNK, потицали су из комерцијалних винограда, и готово 74% ових изолата су означени као позитивни (мутанти). Код свих узорака који су прикупљени са локалитета Радмиловац, Топола, Сланкаменачки Виногради, Черевих, Јагодина, Крњево, Неготини и Смедерево детектована је G143A мутација > 95% алела за резистентност.



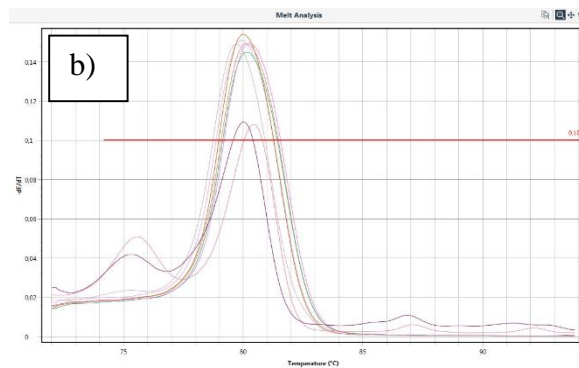
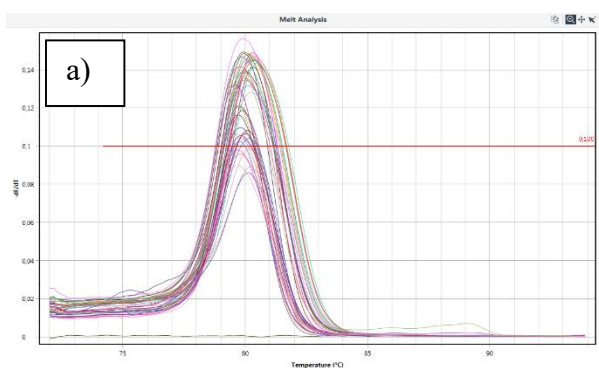
Графикон 17. Процентуална заступљеност популација у оквиру различитих типова винограда, у односу на %G143A алела за резистентност

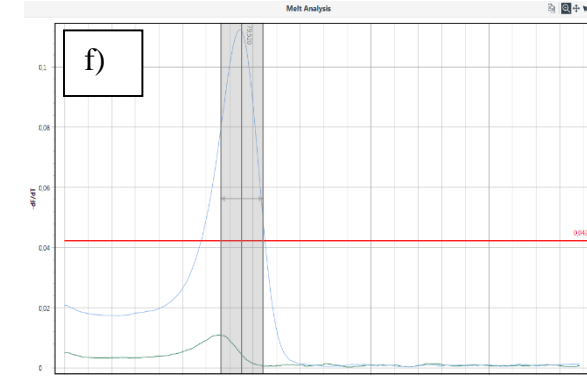
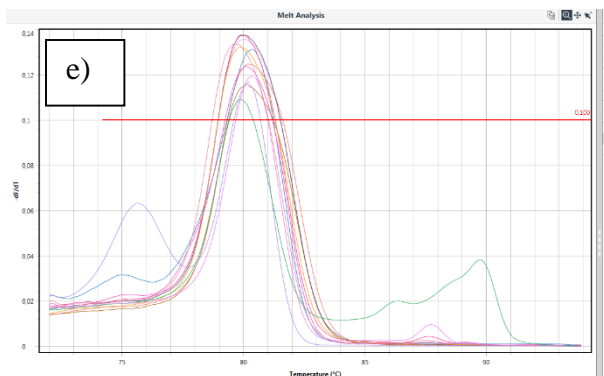
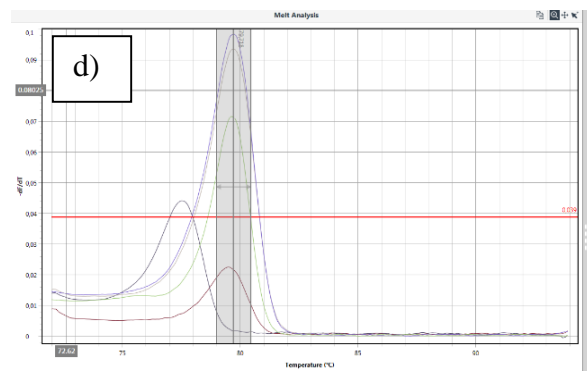
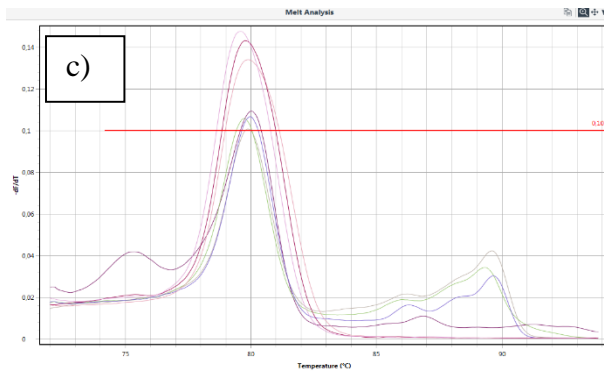
5.2.2 Осетљивост популација *E. necator* на QoI фунгициде

За испитивање осетљивости популација *E. necator* на QoI фунгициде, тестирано је укупно 42 изолата са локалитета где су спроведени пољски огледи: један експериментални (Радмиловац) и три комерцијална винограда (Топола, Сланкаменачки Виногради, Нештин). Додатно је тестирано још 42 изолата са локалитета где је детектована G143A мутација: Брезовац, Аранђеловац, Ириг, Черевих, Јагодина, Александровац, Вршац, Крњево, Велика Плана, Неготин, Смедерево и Власотинце. Укупно 8 изолата је прикупљено и тестирано са локалитета где претходно нису коришћени фунгициди (Земун, Скачак, Совљак) и за ове изолате утврђене су EC_{50} вредности (Табела 35). За испитивање осетљивости изолата коришћене су комерцијалне формулације фунгицида на бази крезоксим-метила и трифлуксиробина, и то у препорученим, два и четири пута већим концентрацијама од препоручених. Од 92 тестирана изолата, 77,2% (71 изолат) изолата је означено као резистентно, а 22,8% (21 изолат) као осетљиво (Табела 33). Резистентни изолати, развијали су се при препорученој, као и при два и четири пута већој концентрацији, док је развој осетљивих потпуно инхибиран при препорученој концентрацији крезоксим-метила и трифлуксиробина. Сви изолати који су носили > 95% резистентног G143A алела били су резистентни на крезоксим-метил и трифлуксиробин у биотесту (Графикон 16). Изолати који су спадали у категорију мешаних („mix“) различито су реаговали на ова два фунгицида. Наиме, од 22 тестирана изолата који су на основу молекуларне карактеризације сврстани у категорију „mix“, 40,9% (9 изолата) било је резистентно, а 59,1% (12 изолата) осетљиво. Код свих резистентних изолата, претходно је утврђено да је %G143A мутације у митохондријалној DNK био у опсегу 80-90%.



Слика 14. „Melting curve“ qPCR анализа узорака са локалитета: а) Нештин; б) Радмиловац; в) Сланкаменачки Виногради; д) Топола.“





Слика 15. „Melting curve“ qPCR анализа узорака са локалитета: а) Жупа, Ириг, Крњево и Јагодина; б) Вршац; с) Скачак; д) Земун; е) Смедерево, Неготин и Велика Плана; ф) Совљак

Табела 33. Порекло изолата, детекција G143A мутације и осетљивост популација *E. necator* на QoI фунгициде.

No	Виноград			Детекција G143A мутације				Осетљивост на QoI фунгициде		
	Тип ^a	Локалитет	Регион ^b	Укупно тестирано	Позитивно	Негативно	Микс	Укупно тестирано	KM ^c Резистентно (осетљиво)	TC ^d
1	Експериментални	Радмиловац	Београд (Ц)	11	11	0	0	10	10 (0)	10 (0)
2	Комерцијални	Топола	Шумадија (Ц)	16	16	0	0	15	15 (0)	15 (0)
3	Комерцијални	Брезовац	Шумадија (Ц)	4	0	0	4	3	2 (1)	2 (1)
4	Екстензиван	Аранђеловац	Шумадија (Ц)	3	0	0	3	3	1 (2)	1 (2)
5	Комерцијални	Сланкаменачки Виногради	Срем (С)	15	15	0	0	11	11 (0)	11 (0)
6	Комерцијални	Нештин	Срем (СЗ)	6	4	0	2	6	6 (0)	6 (0)
7	Екстензиван	Ириг	Срем (СЗ)	3	0	0	3	2	0 (2)	0 (2)
8	Комерцијални	Черевих	Срем (СЗ)	3	3	0	0	2	2 (0)	2 (0)
9	Комерцијални	Јагодина	Поморавље (Ц)	5	5	0	0	5	5 (0)	5 (0)
10	Екстензиван	Александровац	Расина (Ц)	3	0	0	3	3	1 (2)	1 (2)
11	Комерцијални	Александровац	Расина (Ц)	4	0	0	4	3	1 (2)	1 (2)
12	Комерцијални	Вршац	Јужни Банат (СИ)	6	5	0	1	6	6 (0)	6 (0)
13	Комерцијални	Крњево	Подунавље (Ц)	5	5	0	0	5	5 (0)	5 (0)
14	Екстензиван	Велика Плана	Подунавље (Ц)	3	0	0	3	2	0 (2)	0 (2)
15	Комерцијални	Неготин	Бор	3	3	0	0	2	2 (0)	2 (0)

16	Комерцијални	Смедерево	(И) Подунавље (Ц)	4	4	0	0	3	3 (0)	3 (0)
17	Екстензиван	Сремски Карловци	Срем (С)	2	0	2	0	0	/	/
18	Комерцијални	Темерин	Јужна Бачка (С)	3	2	0	1	0	/	/
19	Комерцијални	Власотинце	Јабланица (Ј)	3	0	0	3	3	1 (2)	1 (2)
20	„Wild-type“	Земун	Београд (Ц)	3	0	3	0	3	0 (3)	0 (3)
21	„Wild-type“	Скачак	Расина (Ц)	3	0	3	0	3	0 (3)	0 (3)
22	„Wild-type“	Совљак	Колубара (З)	2	0	2	0	2	0 (3)	0 (3)
Укупно				110	73	10	27	92	71 (21)	71 (21)

^aТип винограда: експериментални - виноград Пољопривредног факултета Универзитета у Београду; комерцијални - стандардни виноград где се спроводи интензивна заштита; екстензиван - виноград са ограниченом применом фунгиција; „wild type“ - виноград без претходне историје примене фунгицида

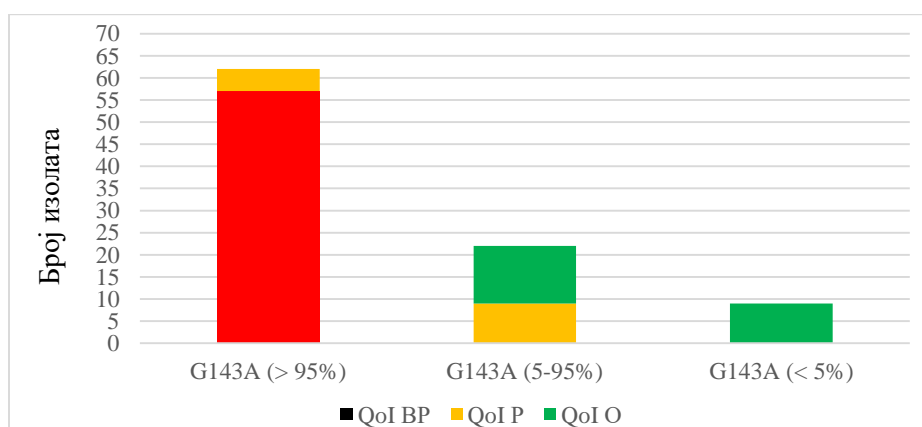
^bРегион из кога су прикупљени узорци (Ц - Централна Србија; С - Северна Србија; СИ - Североисточна Србија; СЗ - Северозападна Србија; З = Западна Србија; И = Источна Србија; Ј= Јужна Србија)

^cКМ - крезоксим-метил; ^dТС - трифлуксистеробин.

Табела 34. EC₅₀ вредности за крезоксим-метил и трифлуксистеробин код нормално осетљивих (тзв. „wild-type“) популација *E. necator*

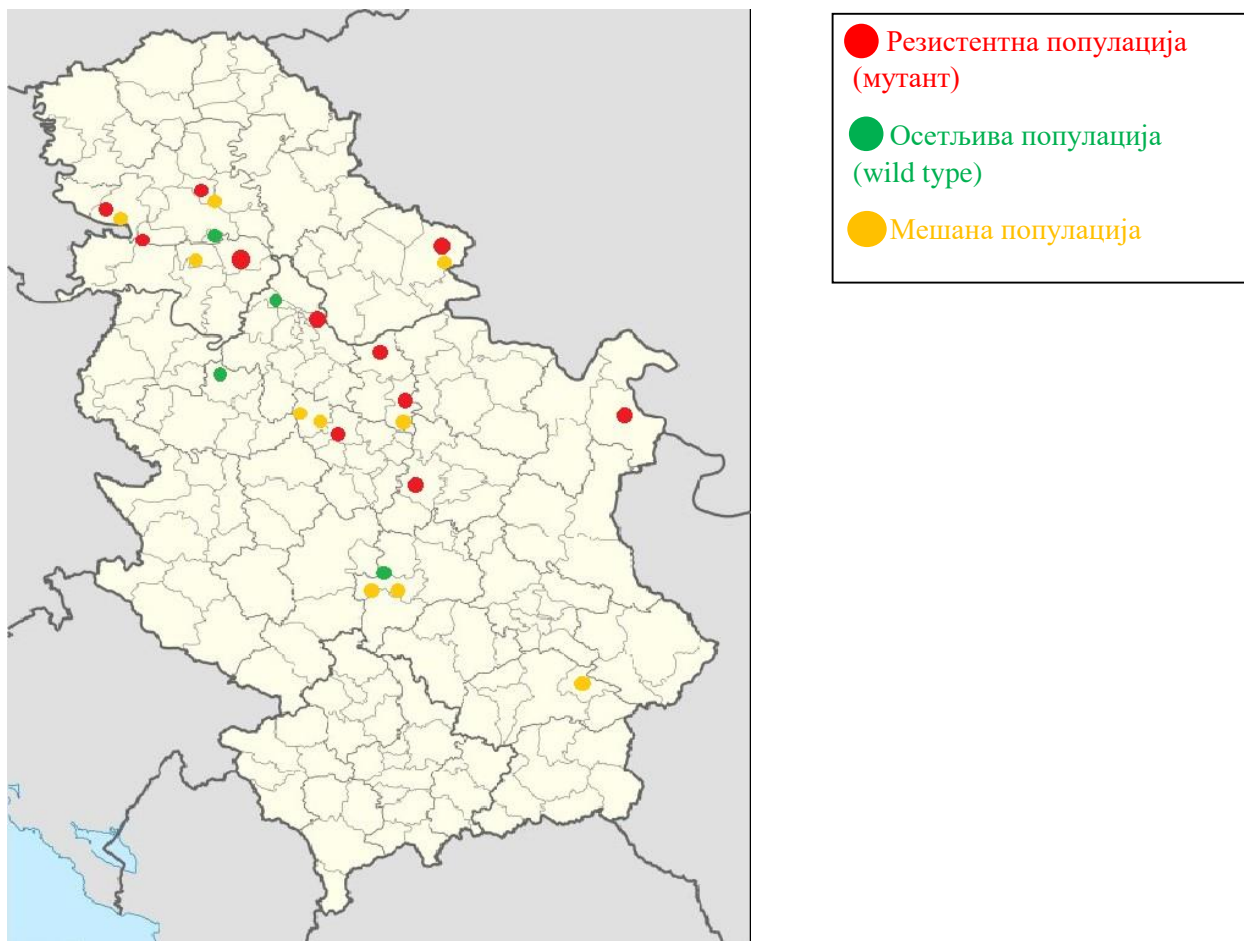
Изолат	Локалитет	EC ₅₀ вредности (mg/l)	
		Крезоксим-метил	Трифлуксистеробин
Z1	Земун	0,057	0,095
Z2		0,042	0,056
Z3		0,033	0,079
SK1	Скачак	0,037	0,076
SK2		0,032	0,033
SK3		0,019	0,025
SOV1	Совљак	0,009	0,024
SOV2		0,026	0,038
Просек		0,032	0,053

Код осетљивих (тзв. „wild-type“) популација *E. necator* EC₅₀ вредности за крезоксим-метил кретале су се у опсегу 0,009-0,057 mg/l, а просечна EC₅₀ за све три тестиране популације била је 0,032 mg/l. За трифлуксистеробин, вредности су биле нешто другачије, па су се тако EC₅₀ вредности кретале у опсегу 0,024-0,095 mg/l, са просечном EC₅₀ која је била 0,053 mg/l (Табела 34). Код резистентних популација, EC₅₀ вредности су биле изнад 100 mg/l за крезоксим-метил, односно изнад 75 mg/l за трифлуксистеробин, док су популације означене као осетљиве, попутно инхибиране при 100, односно 75 mg/l. Обзиром да су за потребе утврђивања практичне резистентности коришћене препоручене, два и четири пута веће концентрације није било могуће утврдити EC₅₀ вредности, па су такви изолати, инхибирани при препорученим концентрацијама ова два фунгицида, сврстани у групу са EC₅₀ вредностима <100 и <75 mg/l (Прилог 2, Табела П2).

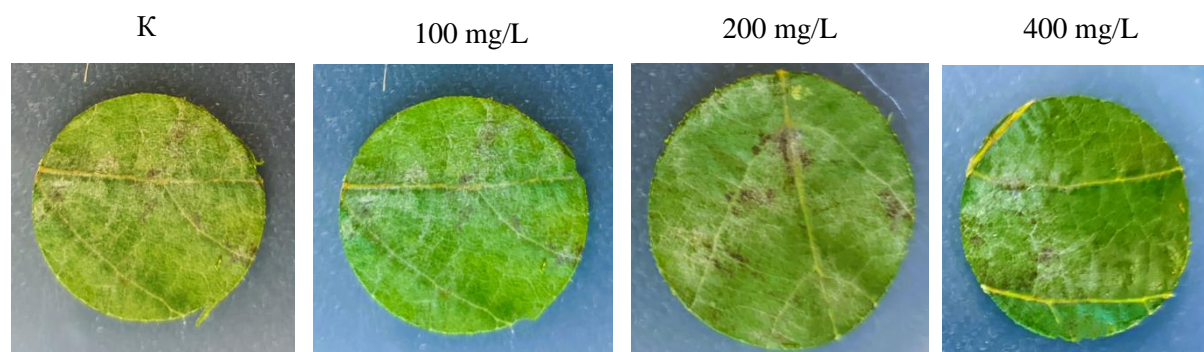


Графикон 18. Дистрибуција изолата *E. necator* у односу на детекцију G143A мутације и њиховог одговора у тестовима са лисним дисковима

Скраћенице: BP – високо резистентни; P – резистентни; O – осетљиви



Слика 16. Мапа популација *E. necator* у односу на њихову осетљивост на QoI фунгициде



Слика 17. Пораст изолата *E. necator* на 100, 200, 400 mg/l крезоксим-метила (популација Топола)

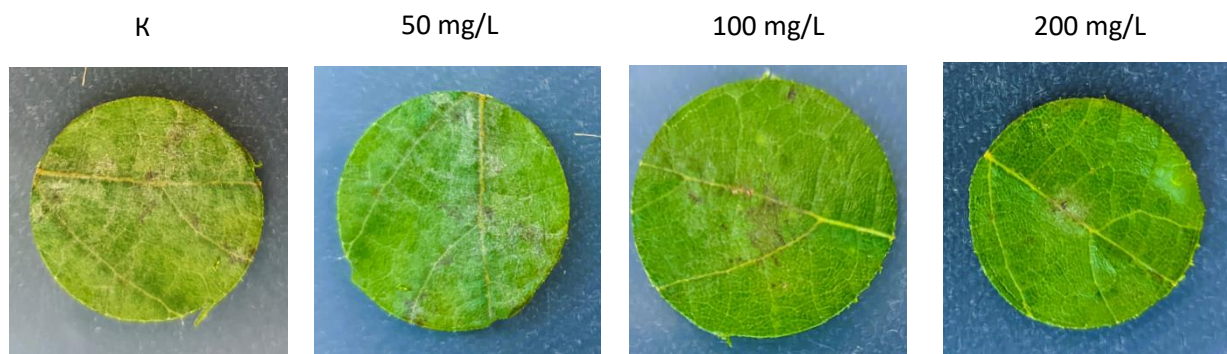
5.3. Осетљивост популација *E. necator* на азанафталене

Са локалитета на којима су изведени огледи у пољу (Радмиловац, Топола, Сланкаменачки Виногради, Нештин) укупно је прикупљен 41 изолат, како би се утврдила практична осетљивост популација *E. necator* на квиноксифен и проквиназид. Додатно је тестирано још 5 изолата са једног локалитета где је квиноксифен, у заштити винове лозе, коришћен дужи низ година. Са локалитета где није забележена историја примене ових

фунгицида тестирано је 8 изолата. Укупно посматрано, осетљивост 46 изолата тестирана је на препорученој, два и четири пута већој концентрацији квиноксифена и проквиназида, док је осетљивост 8 тзв „wild-type“ изолата тестирано на 5 различитих концентрација ових фунгицида, како би се утврдиле EC_{50} вредности за осетљиве популације.

Сви изолати који потичу са тзв. „wild-type“ локалитета били су у потпуности инхибирани на препорученим концентрацијама квиноксифена и проквиназида (Табела 35). За осетљиве изолате *E. necator* на квиноксифен, EC_{50} вредности су се кретале у опсегу 0,035-0,137 mg/l, док је просечна EC_{50} износила 0,078 mg/l. Супротно, изолати који воде порекло из винограда у којима су се изводили огледи у пољу и једног комерцијалног винограда са дужом историјом примене квиноксифена, развијали су се при препорученој концентрацији квиноксифена и означени су као резистентни. При препорученој концентрацији квиноксифена (50 mg/l), просечна инхибиција кретала се од 8,7% (изолати са локалитета Радмиловац) до 47,4% (изолати са локалитета Вршац). При два пута већој концентрацији (100 mg/l) инхибиција је била у опсегу од 33% (изолати са локалитета Топола) до 72,6% (изолати са локалитета Вршац), док се при четири пута већој концентрацији (200 mg/l) инхибиција кретала од 58% (изолати са локалитета Топола) до 93,9% (изолати са локалитета Вршац).

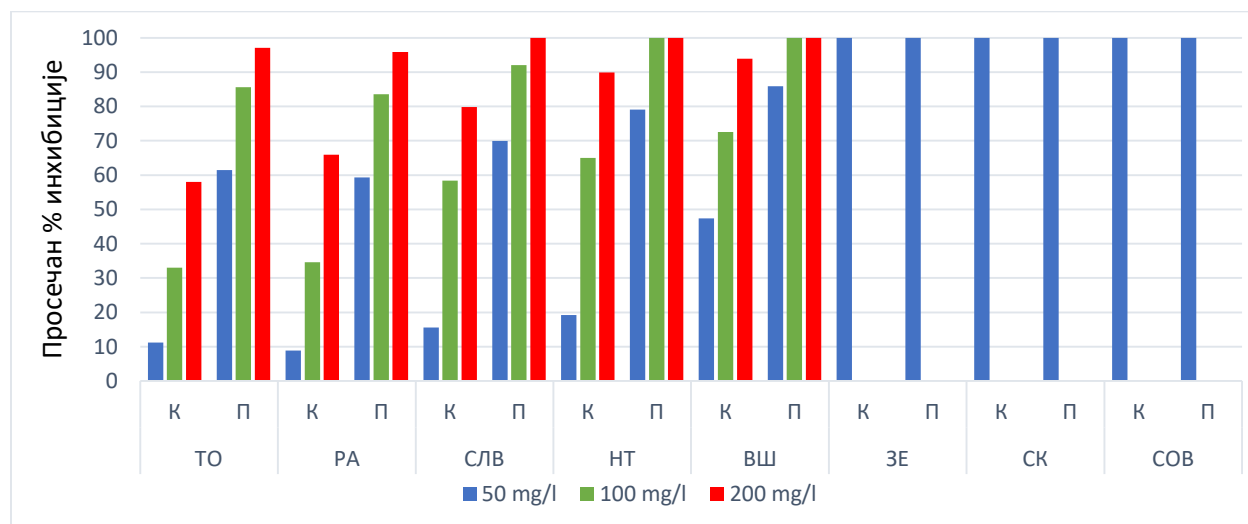
Код нормално осетљивих изолата *E. necator* на проквиназид, утврђене су ниже EC_{50} вредности и оне су биле у опсегу 0,008-0,048 mg/l, док је просечна EC_{50} износила 0,031 mg/L. За разлику од квиноксифена, код тестираних изолата на проквиназид установљена је знатно већа инхибиција, и просечна инхибиција је била већа на свакој испитиваној концентрацији. Пораст тестираних изолата који воде порекло са локалитета Топола и Радмиловац забележен је на све три концентрације проквиназида (50, 100 и 200 mg/l), али су се просечни проценти инхибиције кретали од 59,3% (на 50 mg/l) до 97,1% (на 200 mg/l). Изолати пореклом са локалитета Сланкаменачки Виногради развијали су се при концентрацијама 50 и 100 mg/l (инхибиција 59,3-97,1%), али су у потпуности инхибирани при 200 mg/l. Изолати који воде порекло из Нештина и Вршца развијали су се при препорученој концентрацији проквиназида (инхибиција 79,1-85,9%), док је при два и четири пута већој концентрацији пораст у потпуности инхибиран (Графикон 19).



Слика 18. Развој изолата *E. necator* при 50, 100 и 200 mg/l на квиноксифена (популација Сланкаменачки Виногради)

Табела 35. EC₅₀ вредности за квиноксифен и проквиназид код нормално осетљивих (тзв. „wild-type“) популација *E. necator*

Изолат	Локалитет	EC ₅₀ вредности (mg/l)	
		Квиноксифен	Проквиназид
Z1	Земун	0,045	0,027
Z2		0,137	0,048
Z3		0,135	0,028
SK1	Скачак	0,053	0,023
SK2		0,048	0,046
SK3		0,102	0,047
SOV1	Совљак	0,035	0,008
SOV2		0,068	0,022
Просек		0,078	0,031



Графикон 19. Утицај квиноксифена и проквиназида на развој изолата *E. necator* пореклом из различитих локалитета у *in vivo* тесту са лисним дисковима

Скраћенице: К – квиноксифен; П – проквиназид; ТО – Топола; РА – Радмиловац; СЛВ – Сланкаменачки Виногради; НТ – Нештин; ВШ – Вршац, ЗЕ – Земун, СК – Скачак; СОВ – Совљак

5.4 Осетљивост популација *E. necator* на арил-фенил кетоне

На локалитетима где је забележена ниска ефикасност комерцијалних формулација на бази метрафенона и пириофенона (Топола и Радмиловац), за потребе извођења биотестова прикупљено је и тестирано укупно 25 изолата *E. necator*. Додатно је прикупљено још 10 изолата из два комерцијална винограда где је метрафенон коришћен интензивно у

претходних 7-8 година (Крњево и Смедерево), а још 6 изолата је тестирано са локалитета без претходне историје примене фунгицида (Земун и Скачак).

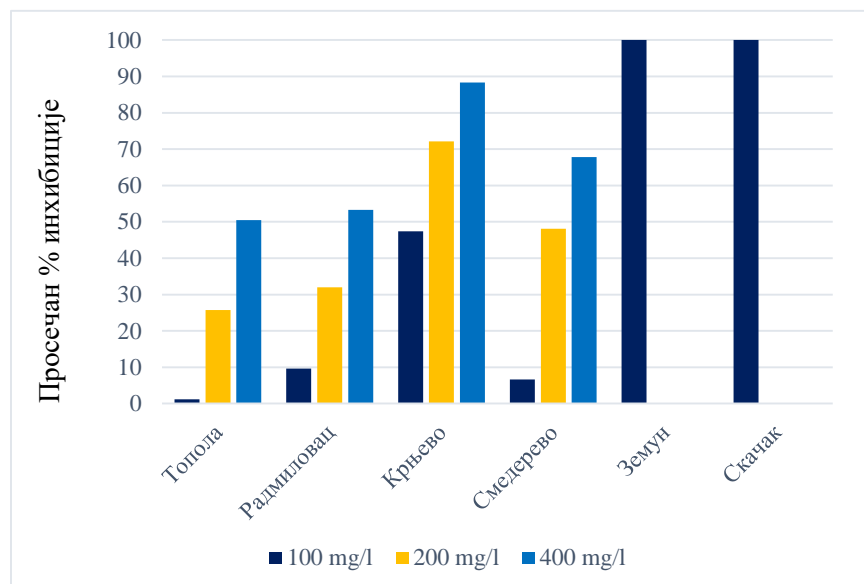
Обзиром да су сви нормално осетљиви изолати, који воде порекло са локалитета без примене фунгицида, у потпуности инхибирани при препорученим концентрацијама метрафенона и пириофенона, коришћене су ниже концентрације комерцијалних формулација ова два фунгицида како би се утврдиле EC_{50} вредности: 10; 1; 0,1 и 0,01 mg/l за метрафенон, односно 9; 0,9; 0,09 и 0,009 mg/l за пириофенон. За нормално осетљиве популације *E. necator* на метрафенон, EC_{50} вредности су се кретале у опсегу 0,198-0,502 mg/L, са просечном вредношћу 0,346 mg/l. За пириофенон EC_{50} вредности биле су нешто ниже, од 0,196 до 325 mg/l, а просечна вредност износила је 0,254 mg/l (Табела 36).

Изолати који су водили порекло са два локалитета где су изведени огледи у пољу, окарактерисани су као резистентни јер је инхибиција при препорученим концентрацијама како метрафенона (100 mg/l), тако и пириофенона (90 mg/l) била ниска и кретала се од 1,2 до 9,6% за метрафенон, односно 3,2 до 3,5% за пириофенон. При вишим концентрацијама инхибиција се повећавала, па је при 200 mg/l метрафенона забележена инхибиција 25,7-32%, односно 25,1-29,8% при 180 mg/l пириофенона. При четири пута већој концентрацији метрафенона од препоручене (400 mg/l) инхибиција је била у опсегу 50,5-53,3%, док је при четири пута већој концентрацији пириофенона (360 mg/l) инхибиција била нешто нижа и кретала се од 45,8 до 48,2% (Графикон 20). Слични резултати добијени су и за изолате који воде порекло из Смедерева, где се просечна инхибиција кретала од 6,6% (100 mg/l) до 67,8% (400 mg/l) за метрафенон, односно од 4,0% (90 mg/l) до 69,5% (360 mg/l) за пириофенон. Нешто осетљивији били су изолати са локалитета Крњево, где су просечни проценти инхибиције били већи и кретали су се од 47,4 до 88,3% за метрафенон и од 37,2 до 84,1% за пириофенон.

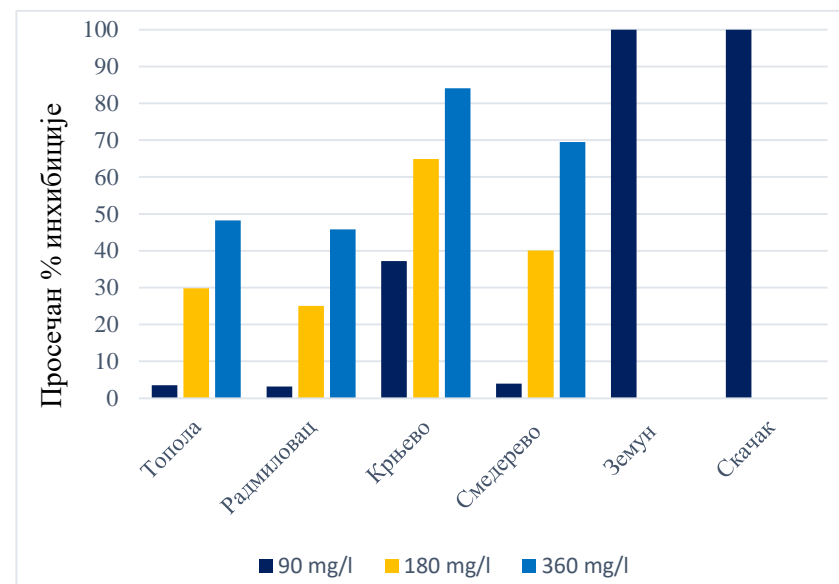
Табела 36. EC_{50} вредности за метрафенон и пириофенон код нормално осетљивих (тзв. „wild-type“) популација *E. necator*

Изолат	Локалитет	EC_{50} вредности (mg/l)	
		Метрафенон	Пириофенон
Z1	Земун	0,321	0,232
Z2		0,502	0,277
Z3		0,233	0,325
SK1	Скачак	0,481	0,196
SK2		0,341	0,271
SK3		0,198	0,221
Просек		0,346	0,254

A



B



Графикон 20. Просечан проценат инхибиције пораста изолата *E. necator* са различитих локалитета у тесту са лисним дисковима са метрафеноном (А) и пириофеноном (В)



Слика 19. Пораст изолата *E. necator* при 100, 200 и 400 mg/L метрафенона (популација Смедерово)



Слика 20. Пораст изолата *E. necator* при 90, 180 и 360 mg/L пириофенона (популација Смедерово)

5.5. Осетљивост популација *E. necator* на ДМІ фунгициде у биотестовима са лисним дисковима и qPCR детекција резистентности

5.5.1 Осетљивост популација *E. necator* на ДМІ фунгициде

За утврђивање осетљивости различитих популација *E. necator* на миклобутанил и дифеноконазол, прикупљено је и тестирано укупно 72 изолата, и то 9 изолата из експерименталог винограда (Радмиловац), 30 изолата из винограда где су изведени огледи у пољу (Топола, Сланкаменачки Виногради и Нештин), 24 изолата из винограда где су ДМІ фунгициди интензивно коришћени у заштити винове лозе од проузроковача пепелнице у претходних 10 година (Жупа, Јагодина, Вршац, Крњево, Аранђеловац, Брезовац, Смедерево и Неготин), као и 8 изолата са локалитета без претходне историје примене фунгицида (Земун, Скачак и Совљак). За утврђивање осетљивости на тебуконазол тестирано је укупно 52 изолата, а са локалитета где су изведени огледи у пољу одабрани су и тестирани најрезистенији изолати на миклобутанил и дифеноконазол како би се проверио потенцијални развој укрштене резистентности између ових фунгицида.

Комерцијална формулација миклобутанила (Foton) коришћена је за потребе извођења тестова са лисним дисковима, и то у следећим концентрацијама активне супстанце: 36, 72 и 144 mg/l. Код нормално осетљивих популација, односно „wild-type“ изолата који су прикупљени са локалитета без претходне историје примене фунгицида коришћене су и ниже концентрације како би се утврдиле ЕС₅₀ вредности: 3,6; 0,36; 0,036 и 0,0036 mg/l (Табела 37). За миклобутанил, ЕС₅₀ вредности су се кретале од 0,065 до 0,379 mg/L, са просечном вредношћу 0,185 mg/l.

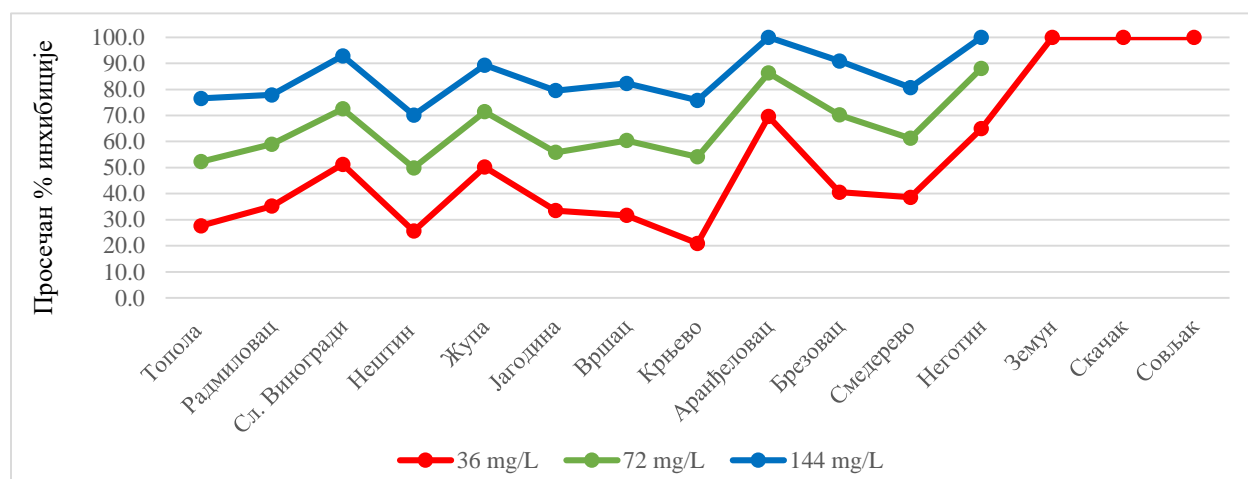
Табела 37. ЕС₅₀ вредности за миклобутанил, дифеноконазол и тебуконазол код нормално осетљивих (тзв. „wild-type“) популација *E. necator*

Изолат	Локалитет	ЕС ₅₀ вредности (mg/l)		
		Миклобутанил	Дифеноконазол	Тебуконазол
Z1	Земун	0,379	0,097	0,313
Z2		0,162	0,056	0,322
Z3		0,209	0,169	0,491
SK1	Скачак	0,152	0,124	0,221
SK2		0,125	0,081	0,179
SK3		0,283	0,167	0,493
SOV1	Совљак	0,101	0,067	0,401
SOV2		0,065	0,061	0,247
Просек		0,185	0,103	0,333

Најнижа инхибиција при препорученој концентрацији миклобутанила (36 mg/l) забележена је код изолата пореклом са локалитета Крњево која је била 20,9%, а највећа је, не рачунајући нормално осетљиве популације, утврђена за изолате који воде порекло из

Аранђеловца (око 69%) (Графикон 21). Ниска инхибиција при препорученој концентрацији миклобутанила забележена је и код изолата из Нештина (25,7%), Тополе (27,7%), Вршца (31,7%), Јагодине (33,5%), Радмиловца (35,2%) и Брезовца (40,6%). При два пута већој концентрацији миклобутанила инхибиција се кретала од 49,9% (Нештин) до 88,1% (Неготин). Инхибиција између 50 и 60% утврђена је код изолата из Крњева, Тополе, Јагодине, Радмиловца и Вршца. При четири пута већој концентрацији најмања инхибиција утврђена је за изолате пореклом из Нештина (70,2%) а највећа >99% код изолата из Неготина и Аранђеловца. Инхибиција између 70 и 80% при четири пута већој концентрацији миклобутанила забележена је код изолата из Крњева, Тополе, Радмиловца и Јагодине.

Графикон 21. Инхибиција развоја различитих популација *E. necator* у биотестовима са



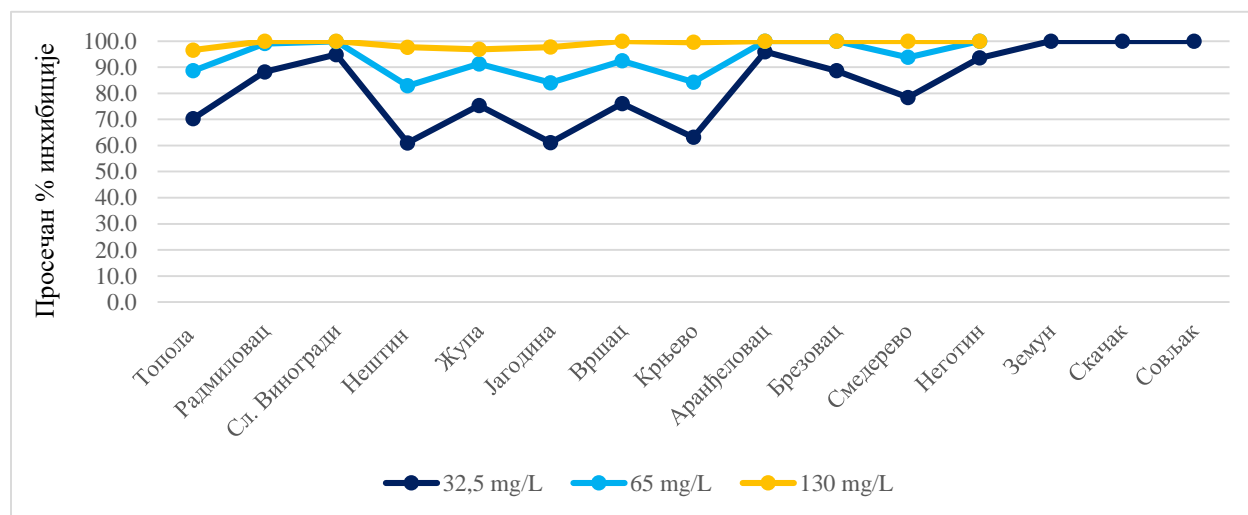
лисним дисковима при препорученој, два и четири пута већој концентрацији миклобутанила

За потребе извођења тестова са лисним дисковима, односно за утврђивање осетљивости изолата *E. necator* на дифеноконазол, коришћена је комерцијална формулација Sekvensa следећих концентрација активне супстанце: 32,5; 65 и 130 mg/l. Код нормално осетљивих популација, односно тзв. „wild-type“ изолата који су прикупљени са локалитета без претходне историје примене фунгицида коришћене су и ниже концентрације како би се утврдиле EC_{50} вредности: 3,25; 0,325; 0,0325 и 0,00325 mg/l. За дифеноконазол, EC_{50} вредности су се кретале од 0,056 до 0,167 mg/l, са просечном вредношћу 0,103 mg/l (Табела 37).

При препорученој коцентрацији дифеноконазола (32,5 mg/l), најнижа инхибиција развоја забележена је код изолата који воде порекло из Нештина и Јагодине (око 61%), а највећа (95,9%) код изолата који су прикупљени са локалитета Аранђеловац (Графикон 22). Инхибиција развоја између 60 и 80% утврђена је и за изолате из Крњева (63,2%), Тополе (70,3%) Жупе (75,4%), Вршца (76,1%) и Смедерева (78,4%). При два пута већој концентрацији дифеноконазола од препоручене, најнижа инхибиција утврђена је за изолате из Нештина (82,9%), Јагодине (84,1%), Крњева (84,3%) и Тополе (88,7%). Максимална инхибиција развоја (100%) забележена је код изолата пореклом из Аранђеловца, Брезовца и Неготина, а готово максимална (> 99%) инхибиција код изолата пореклом из Радмиловца и Сланкаменачких Винограда. При четири пута већој концентрацији од препоручене код

већине изолата утврђена је максимална инхибиција развоја, осим код изолата из Тополе (96,6%), Жупе (96,9%), Нештина (97,6%), Јагодине (97,7%) и Крњева (99,6%).

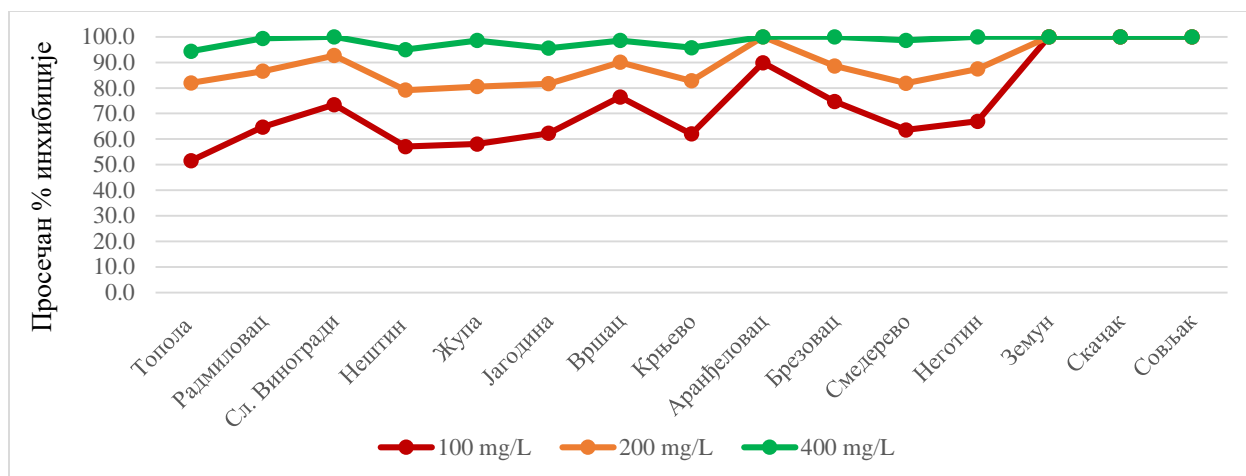
Графикон 21. Инхибиција развоја различитих популација *E. necator* у биотестовима са



лисним дисковима при препорученој, два и четири пута већој концентрацији дифеноконазола

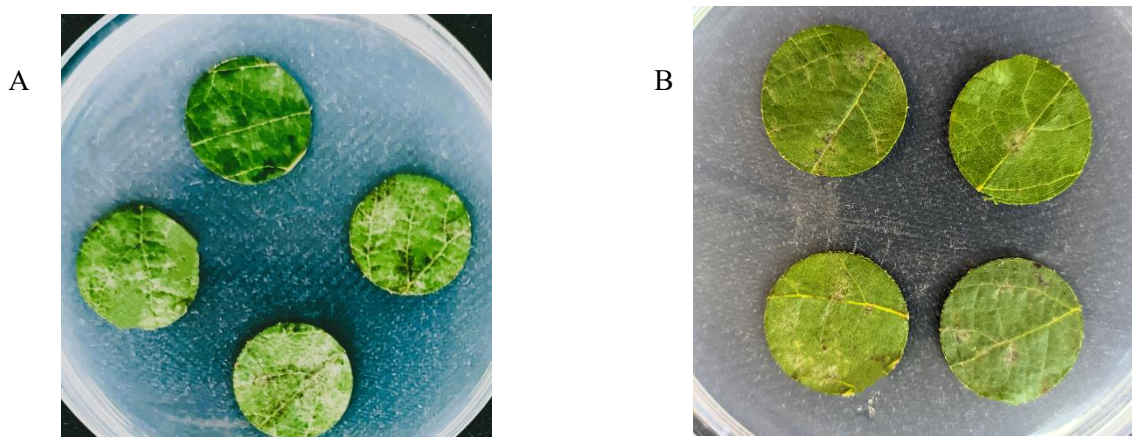
За утврђивање осетљивости изолата *E. necator* на тебуконазол, коришћена је комерцијална формулација ове активне супстанце, односно препарат Folicur 250 EW, следећих концентрација активне супстанце: 100; 200 и 400 mg/l. Код нормално осетљивих популација, односно тзв. „wild-type“ изолата који су прикупљени са локалитета без претходне историје примене фунгицида коришћене су и ниже концентрације како би се утврдиле EC_{50} вредности: 10; 1; 0,1 и 0,01 mg/l. За тебуконазол, EC_{50} вредности су се кретале од 0,179 до 0,493 mg/l, док је просечна вредност била 0,333 mg/l (Табела 37).

При препорученој концентрацији тебуконазола, најнижа инхибиција забележена је код изолата из Тополе (51,6%), а највиша, не рачунајући „wild-type“ популације, код изолата пореклом из Аранђеловца (89,9%) (Графикон 23). Релативно ниска инхибиција утврђена је и за изолате из Нештина (57%), Жупе (58%), Крњева (62%), Јагодине (62,3%), Смедерева (63,6%), Радмиловца (64,7%) и Неготина (67%). При два пута већој концентрацији тебуконазола од препоручене (200 mg/l), инхибиција је била знатно већа и кретала се од 79,2% (Нештин) до 100% (Аранђеловац). У распону 80-90% инхибиције развоја налазиле су се изолати из Жупе (80,6%), Јагодине (81,7%), Смедереве (81,9%), Тополе (82%), Крњева (82,8%), Радмиловца (86,5%), Неготина (87,4%) и Брезовца (88,6%). При четири пута већој концентрацији од препоручене (400 mg/l) готово максимална инхибиција (>99%) уочена је код изолата из Аранђеловца, Сланкаменачких Винограда, Брезовца, Неготина и Радмиловца, док је најнижа, али релативно висока инхибиција утврђена код изолата из Тополе (94,4%), Нештина (95%), Јагодине (95,6%) и Крњева (95,7%).

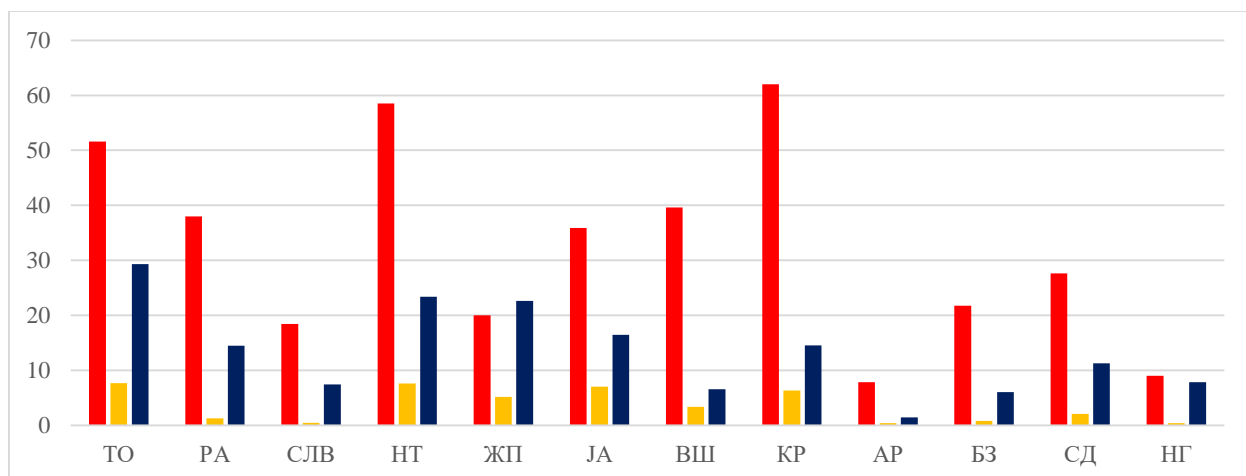


Графикон 21. Инхибиција развоја различитих популација *E. necator* у биотестовима са лисним дисковима при препорученој, два и четири пута већој концентрацији тебуконазола

Просечне очекиване EC_{50} вредности за миклобутанил у биотестовима кретале су се од 7,9 mg/l (изолати из Аранђеловца) до 58,5 mg/l (изолати из Нештина). У односу на препоручену концентрацију миклобутанила која је 36 mg/L, просечне очекиване EC_{50} вредности које су биле ≥ 36 mg/L, утврђене су за изолате са следећих локалитета (Графикон 24): Крњево (62,0 mg/L), Топола (51,6 mg/l), Вршац (39,6 mg/l), Радмиловац (38,0 mg/l) и Јагодина (35,9 mg/l). Очекивани фактор резистентности (RF) за миклобутанил код популација *E. necator* кретао се од 42 до 335, са просечном вредношћу RF од 176 (Табела 38). За дифеноконазол, просечне очекиване EC_{50} вредности биле су у опсегу од 0,2 mg/l (Аранђеловац) до 7,69 mg/l (Топола). Очекивани RF за дифеноконазол код популација *E. necator* кретао се од 2 до 75, са просечном вредношћу 27. За тебуконазол, просечне очекиване EC_{50} вредности биле су у опсегу од 1,5 mg/l (Аранђеловац) до 29,3 mg/l (Топола), док се очекивани RF кретао од 4 до 88 (у просеку 40).



Слика 21. Пораст изолата *E. necator* при 36, 72 и 144 mg/l миклобутанила (А) и 100, 200, 400 mg/l тебуконазола (Б) (популација Нештин)

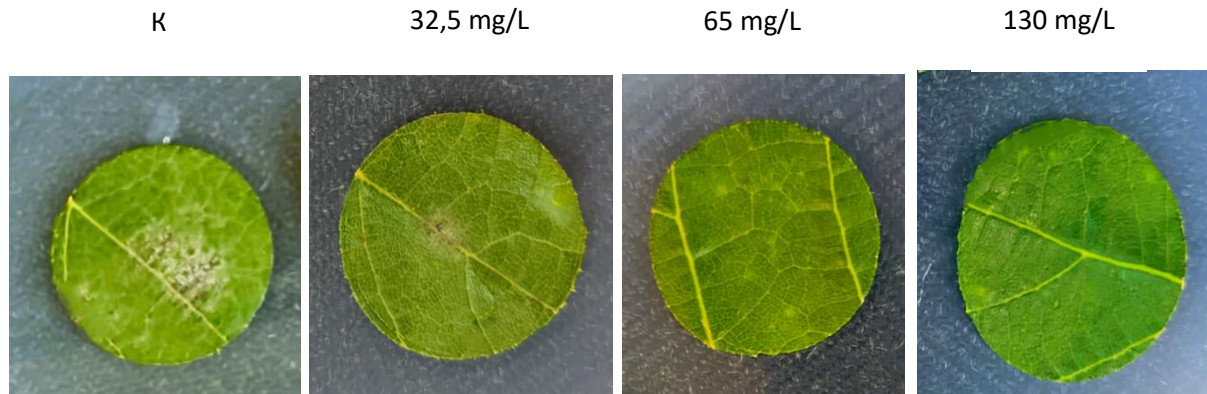


Графикон 24. Просечне очекиване EC_{50} вредности за миклобутанил (означено црвеном бојом), дифеноконазол (означено жутом бојом) и тебуконазол (означено плавом бојом) (ТО – Топола; РА – Радмиловац; СЛВ – Сланкаменачки Виногради; НТ – Нештин, ЖП – Жупа, ЈА – Јагодина, ВШ – Вршац; КР – Крњево; АР – Аранђеловац; БЗ – Брезовац; СД – Смедерево; НГ – Неготин)

Табела 38. Просечне очекиване EC_{50} вредности нормално осетљивих („wild-type“) популација и просечне очекиване EC_{50} вредности тестираних популација и очекиваних фактора резистентности за миклобутанил, дифеноконазол и тебуконазол.

Популација	Миклобутанил			Дифеноконазол			Тebuконазол		
	Просечна EC_{50} (mg/l)	RF	Тип	Просечна EC_{50} (mg/l)	RF	Тип	Просечна EC_{50} (mg/l)	RF	Тип
Земун, Скачак, Совљак („wild-type“)	0,185	/	НО	0,103	/	НО	0,333	/	НО
Топола	51,59	279	ВР	7,69	75	Р	29,32	88	Р
Радмиловац	37,99	205	ВР	1,36	13	УР	14,5	43	Р
Сланкаменачки Виногради	18,44	99	Р	0,45	9	УР	7,47	22	Р
Нештин	58,5	318	ВР	5,41	52	Р	23,38	70	Р
Жупа	20,03	109	ВР	0,74	7	УР	22,62	68	Р
Јагодина	35,91	195	ВР	6,17	60	Р	16,46	49	Р
Вршац	39,64	214	ВР	2,71	26	Р	6,56	20	УР
Крњево	61,99	335	ВР	5,04	49	Р	14,56	44	Р
Аранђеловац	7,85	42	Р	0,23	2	НО	1,45	4	УР
Брезовац	21,73	117	ВР	0,99	10	УР	6,05	18	УР
Смедерево	27,67	150	ВР	2,02	20	УР	11,27	34	Р
Неготин	9,04	49	Р	0,43	4	УР	7,85	24	Р
Просек	32,53	176	/	3,57	27	/	13,46	40	/

РФ – фактор резистентности; НО – нормално осетљива популација; ВР - веома резистентна популација; Р – резистентна популација; УР – умерено резистентна популација.



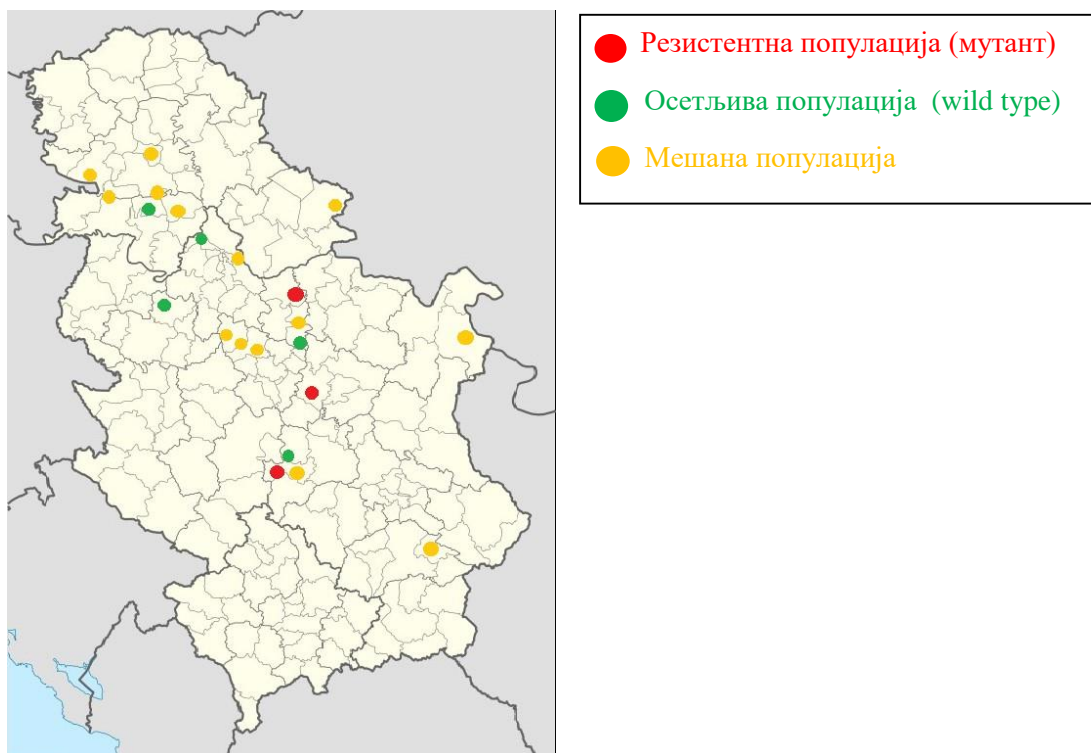
Слика 22. Пораст изолата *E. necator* 32,5, 65 и 130 mg/l дифеноконазола (популација Радмиловац)

5.5.2 Детекција Y136F мутације код популација *E. necator* резистентних на ДМГ фунгициде

У циљу детекције Y136F мутације код изолата *E. necator* у периоду од 2019. до 2023. године, прикупљено је и тестирано укупно 106 изолата овог патогена. Од 106 тестираних, применом real-time pcr анализе, код 45 је утврђено присуство ове мутације (Табела 39). У експерименталном винограду (лок. Радмиловац), укупно је тестирано 11 изолата: 8 који су прикупљени 2019. године и 3 која су прикупљена 2021. године. Мутација је детектована само код 2 изолата, једног који потиче из 2019. и другог који потиче из 2021. године. У комерцијалним виноградима, где су изведени огледи ефикасности (Топола, Нештин, Сланкаменачки Виногради), укупно је прикупљено и тестирано 38 изолата од којих је код 13 детектована Y136F мутација. На локалитету Топола, од 8 узорка из 2019. године само код 2 је потврђена мутација, док су оба узорка из 2020. године била негативна. Међутим, 2021. године, од 6 тестираних изолата, код 5 је детектована мутација. Од 16 узорка који воде порекло са локалитета Сланкаменачки Виногради, који су прикупљени у период од 2019. до 2021. године, код 3 узорка је детектована мутација, односно сваке године је детектован по један позитиван узорак. Даље, мутација је детектована код 3 од 6 тестираних изолата пореклом са локалитета Нештин. Све популације са локалитета где су извођени огледи ефикасности, означене су као „mix“ (мешане) популације, обзиром да су у оквиру популација детектовани поједини изолати са резистентним Y136F алелом.

Код изолата који су прикупљени из комерцијалних винограда, претежно су популације биле мешане, јер је одређен број изолата у оквиру саме популације носио мутацију, и такви случајеви су забележени на следећим локалитетима: Брезовац (од 3 тестирана узорка 2 су била позитивна), Черевих (од 2 тестирана узорка 1 је био позитиван), Вршац (од 6 тестираних узорка 4 су била позитивна), Крњево (од 5 тестираних, 4 позитивна), Неготин (од 3 тестирана узорка 1 је био позитиван), Темерин (од 2 тестирана узорка 1 је био позитиван) и Власотинце (од 3 тестирана узорка 1 је био позитиван). Било је и таквих локалитета, где је код свих тестираних изолата утврђена Y136F мутација. Таква ситуација, забележена је код изолата прикупљених 2022. године са локалитета Јагодина, Александровац и Смедерево, па су такве популације означене као тзв. „mutant“ популације (Слика 24).

Када се говори о екстензивним виноградима, где су се DMI фунгициди у програмима заштите примењивали 1-2 пута годишње, од укупно 13 изолата који су прикупљени из пет винограда, код 4 је детектована Y136F мутација. Такви изолати били су пореклом из три винограда (Аранђеловац, Александровац и Сремски Карловци) и те популације су сврстане у групу „mix“, док у два винограда није детектована мутација (Велика Плана и Ириг), па су такве популације означене као тзв. „wild-type“ популације. Узорци који су прикупљени са локалитета где претходно нису коришћени фунгициди, нису носили мутацију, и означени су као „wild-type“.



Слика 23. Мапа популација *E. necator* у односу на детекцију Y136F мутације

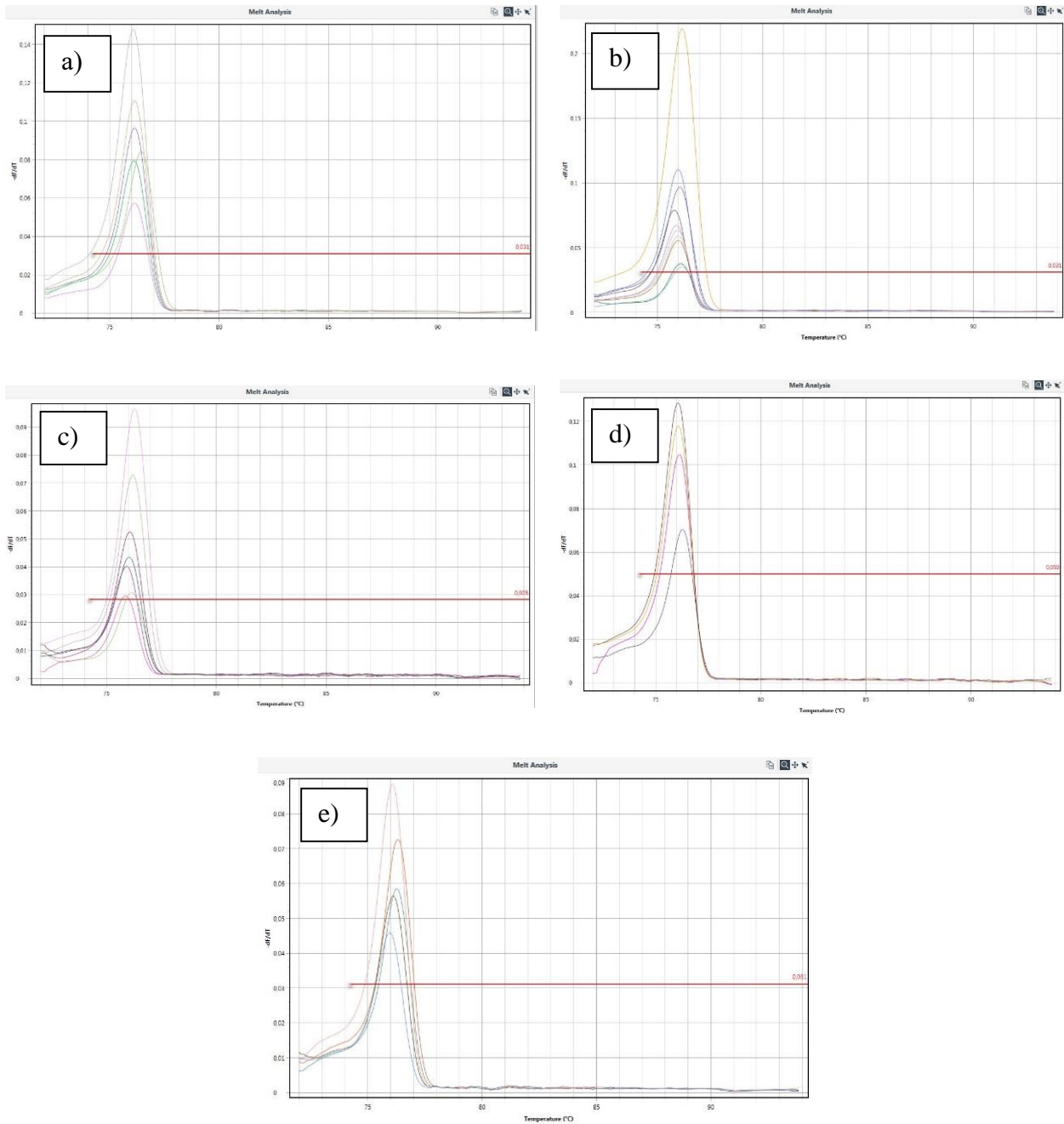


Графикон 25. Процентуална заступљеност изолата са Y136F мутацијом у односу на тип винограда

Табела 39. Подаци о тестираним изолатима и детекција Y136F мутације код изолата *E. necator*

No	Тип ^a	Виноград		Детекција Y136F				Ознака популације
		Локалитет	Регион ^b	Година узорковања	Укупно тестирано	Позитивно	Негативно	
1	Експериментални	Радмиловац	Београд (Ц)	2019	8	1	7	Mix
				2021	3	1	2	
				Укупно	11	2	9	
2	Комерцијални	Топола	Шумадија (Ц)	2019	8	2	6	Mix
				2020	2	0	2	
				2021	6	5	1	
				Укупно	16	7	9	
3	Комерцијални	Брезовац	Шумадија (Ц)	2022	3	2	1	Mix
4	Екстензиван	Аранђеловац	Шумадија (Ц)	2022	3	2	1	Mix
5	Комерцијални	Сланкаменачки Виногради	Срем (С)	2019	3	1	2	Mix
				2020	3	1	2	
				2021	10	1	9	
				Укупно	16	3	13	
6	Комерцијални	Нештин	Срем (СЗ)	2021	4	1	3	Mix
				2022	2	2	0	
				Укупно	6	3	3	
7	Екстензиван	Ириг	Срем (СЗ)	2021	3	0	3	Wild-type
8	Комерцијални	Черевих	Срем (СЗ)	2021	2	1	1	Mix
9	Комерцијални	Јагодина	Поморавље (Ц)	2022	4	4	0	Mutant
10	Екстензиван	Александровац	Расина (Ц)	2022	3	1	2	Mix
11	Комерцијални	Александровац	Расина (Ц)	2022	4	4	0	Mutant
12	Комерцијални	Вршац	Јужни Банат (СИ)	2022	6	4	2	Mix

13	Комерцијални	Крњево	Подунавље (Ц)	2022	5	4	1	Mix
14	Екстензиван	Велика Плана	Подунавље (Ц)	2022	2	0	2	Wild-type
15	Комерцијални	Неготин	Бор (И)	2022	3	1	2	Mix
16	Комерцијални	Смедерево	Подунавље (Ц)	2022	4	4	0	Mutant
17	Екстензиван	Сремски Карловци	Срем (С)	2022	2	1	1	Mix
18	Комерцијални	Темерин	Јужна Бачка (С)	2022	2	1	1	Mix
19	Комерцијални	Власотинце	Јабланица (Ј)	2020	3	1	2	Mix
20	„Wild-type“	Земун	Београд (Ц)	2019	2	0	2	Wild-type
				2020	1	0	1	
Укупно					3	0	3	
21	„Wild-type“	Скачак	Расина (Ц)	2022	3	0	3	Wil-type
22	„Wild-type“	Совљак	Колубара (З)	2021	2	0	2	Wild-type
Укупно					106	45	61	



Слика 24., „Melting curve“ qPCR анализа узорака са локалитета: а) Крњево и Смедерево; б) Топола, Аранђеловац и Брезовац; с) Радмиловац, Вршац и Нештин; д) Јагодина; е) Александровац

6. ДИСКУСИЈА

Гљива *Erysiphe necator*, проузроковач пепелнице винове лозе је несумњиво један од економски најзначајнијих патогена ове биљне врсте широм света, а његова комплексна природа чини заштиту винове лозе веома изазовном и захтевном. Приступ у сузбијању овог патогена мора бити темељан и свеобухватан како би се спречиле штете, односно сачувао принос и квалитет грождја. Ефикасно сузбијање *E. necator* може се постићи интегралним приступом, који подразумева примену свих доступних мера, укључујући превентивне, агротехничке, биолошке и хемијске мере. Међутим, примена фунгицида и данас је незаменљиво и најефикасније „оруђе“ у одрживој заштити винове лозе од проузроковача пепелнице. Узимајући у обзир чињеницу да се у сузбијању *E. necator* претежно користе фунгициди са специфичним механизмима деловања, који су према FRAC-у углавном сврстани у групу са средњим или високим ризиком од развоја резистентности, од есенцијалног је значаја да се такви фунгициди примењују у складу са принципима антирезистентне стратегије, како би што дуже могли да се користе за ефикасно сузбијање овог патогена. Међутим, специфичност тих фунгицида и њихова дуготрајна употреба, као и природа самог патогена, последично је довела до промене осетљивости популација *E. necator* у свету. Управо је прогресивни развој резистентности популација *E. necator* последњих 10-15 година можда и највећи проблем у виноградарској производњи, са којим се суочавају пољопривредници, стручна и научна заједница. Са тог аспекта, најизраженији проблем јесте рапидни развој резистентних популација *E. necator* на QoI и DMI фунгициде, који у највећем броју виноградарских подручја чине окосницу сузбијања овог патогена (Dufour et al., 2011; Miles et al., 2012; Colcol and Baudoin, 2016; Rallos and Baudoin, 2016).

Праћење осетљивости популација *E. necator* подразумева имплементацију свих доступних научних метода, како оних класичних, тако и молекуларних, односно оно подразумева континуирано извођење огледа у пољу, биотестова и примену доступних молекуларних техника. Први корак у откривању резистентних популација јесте заправо спровођење огледа ефикасности, где се пружа иницијалан увид у стање осетљивости једне популације. У Србији, у периоду од 2016. до 2018. године, примећена је значајна појава обољења у појединим виноградима где је примењивана редовна заштита од проузроковача пепелнице. Увидом у програме заштите установљено је да су окосницу у сузбијању *E. necator*, дужи низ година, чиниле активне супстанце које припадају QoI и DMI фунгицидима, те се могло претпоставити да је дошло до промена осетљивости популација овог патогена на поменуте фунгициде (Прилог 3, Табела П3). Како би се ова претпоставка и потврдила, изведени су огледи ефикасности у пољу, биотестови са лисним дисковима и real-time PCR анализа. У циљу стварања шире слике о статусу осетљивости популација *E. necator* у нашој земљи, у пољским огледима је у периоду од 2019. до 2023. године вршено испитивање већег броја најзначајнијих фунгицида из неколико група, који се редовно и дуже време користе у заштити винове лозе од овог патогена. Фунгициди који су испољили смањену ефикасност у сузбијању *E. necator* у пољским огледима, одабрани су за даља тестирања у *in vivo* условима (тестови са лисним дисковима), како би се и на тај начин потврдила промена осетљивости популација *E. necator* на те фунгициде. С обзиром на то да се ради о групама фунгицида у оквиру којих је утврђено постојање укрштене резистентности, неопходно је било утврдити да ли је и између којих активних супстанци дошло до развоја овог феномена.

6.1 Појава обољења у пољским огледима

Услови за развој *E. necator* у контролним варијантама током извођења огледа у пољу били су углавном повољни, и у појединим годинама су резултирали значајном појавом симптома обољења на гроздовима и листовима. Током 2019. године, на локалитету Радмиловац интензитет обољења на гроздовима у контроли кретао се од 51,93 до 69,0% (81,5-88,5% заражених гроздова) и 38,39-52,36% (65,5-88,0 заражених гроздова) на локалитету Топола. Интензитет обољења на листовима износио је 28,74% на локалитету Радмиловац, односно 25,64% на локалитету Топола. Према литературним подацима, за остваривање примарне инфекције, у периоду од бубрења пупољака до цветања када траје период избацивања аскоспора, неопходно је да падне најмање 2,5 mm кише са периодом влажења дужим од 2,5 часова и истовремено просечна температура буде изнад 11 °C (Jailloux et al., 1999). На локалитету Радмиловац, услови за примарну инфекцију, која је била слаба, остварили су се између 14. и 15. априла (Прилог 1, Графикон П1-1) и тада је пало око 6 mm кише са периодом влажења дужим од 20 сати, али при релативно ниској просечној температури од 10,12 °C, у фенофази бубрење пупољака. На локалитету Топола, слабија примарна инфекција остварена је 23.04 када је пало преко 9 mm кише са периодом влажења дужим од 15 сати, при просечној температури изнад 11 °C. Следећи погодан моменат за нешто јачу инфекцију на локалитетима Радмиловац и Топола био је између 27. и 28. априла (фенофаза 4-6 развијених листова) када је пало око 6 mm кише са периодом влажења дужим од 20 сати (релативна влажност изнад 85%) при просечној температури око 15 °C и између 04. и 05. маја (фенофаза диференцијација цвасти) са количином кише >15 mm, периодом влажења око 20 сати (релативна влажност >90%) и просечном температуром око 15 °C, мада је након тога уследио период нижих просечних температура. Јака инфекција остварена је између 18. и 19. маја (пред цветање), када је пало преко 30 литара кише на локалитету Радмиловац, односно око 10 литара кише на локалитету Топола, са периодом влажења дужим од 15 сати и просечном температуром изнад 17 °C (релативна влажност >90%). Услови за секундарне инфекције били су нарочито повољни током јуна од (10. до 19. јуна) у фенофази прецветавања и бобице величине зрна пиринча које су уједно и најосетљивије фенофазе за инфекцију бобица. Краткотрајни пљускови, праћени оптималном влажноћу ваздуха (између 80 и 85%) и оптималним температурама за развој конидија (између 20 и 29 °C), довеле су до јаке појаве обољења на гроздовима. Слични услови током јула месеца са честим краткотрајним падавинама у комбинацији са вишим температурама (између 20 и 27 °C) довеле су до нових секундарних инфекција и значајне појаве патогена на листовима. На локалитету Сланкаменачки Виногради, интензитет обољења био је нешто нижи у односу на претходна два локалитета, како на гроздовима (20,92-39,41% и 68-84% заражених гроздова), тако и на листовима (20,25%). Прва слабија инфекција остварена је релативно рано, око 10.04, у фенофази бубрења пупољака, а јача инфекција 27.04. (почетак диференцијације цвасти) и тада је пало преко 35 mm кише са периодом влажења дужим од 20 сати (релативна влажност ваздуха > 90%) при просечној температури око 15 °C. Као и на претходним локалитетима, јака инфекција остварена је између 04. и 05. маја (фенофаза диференцијација цвасти), и тада је пало око 20 mm кише, са периодом влажења од око 20 сати, при просечној температури око 15 °C. За разлику, од претходна два локалитета, јаке олујне кише током јуна и јула, утицале су на значајније спирање инокулума са гроздова, а нарочито са листова, што је резултирало нешто слабијом појавом симптома обољења него на локалитетима Топола и Радмиловац. Литературни подаци указују да обилне падавине, праћене високом релативном влажноћу (>90%), не

погодују развоју конидија, које су одговорне за остваривање секундарних инфекција (Gadoury and Pearson, 1990; Blaich et al., 1989; Haaleen and Holz, 2001).

Током 2020. године, испитивања су спроведена на четири локалитета, а најјачи интензитет појаве обољења забележен је на локалитету Топола и на гроздовима (инт. обољења 76,9-87,89% и 100% гроздова са симптомима обољења) и на листовима (45,4%). Нешто слабија појава обољења забележена је на локалитету Сланкаменачки Виногради: 39,92-52,15% на гроздовима (82-91% заражених гроздова) и 31% на листовима. На локалитету Нештин, интензитет обољења на гроздовима кретао се од 24,35 до 33,63% (24,9% на листовима), а на лок. Радмиловац од 18,89 до 28,27% (16% на листовима). На локалитету Топола и Сланкаменачки Виногради, слаба примарна инфекција остварена је 01.05., односно 02.05, када је пало око 10, односно 6 mm кише, а период влажења био дужи од 12 сати, при просечној температури >12, односно >11 °C (Прилог 1, Графикони П1-2, П1-4). Јака инфекција остварена је 20.05. (фенофаза: цвасти набубреле, пред цветање), када је пало >25 mm (лок. Топола), односно >10 mm кише (лок. Сланкаменачки Виногради), уз период влажења дужи од 15 сати, при просечној температури изнад 15 °C и релативној влажности ваздуха изнад 95%. На локалитету Топола, услови за секундарне инфекције били су погодни, нарочито од 10. до 24. јуна, када су честе и краткотрајне падавине, уз повољну релативну влажност између 60 и 85% и оптималне температуре од 20 до 28 °C, довели до значајне појаве симптома обољења на гроздовима. Оптимални услови за развој патогена су се наставили и током јула месеца, што је резултирало значајном појавом симптома обољења и на листовима на истом локалитету. На локалитету Сланкаменачки Виногради, услови за секундарне инфекције били су погодни, али су јаке и обилне кише од 18. до 23. јуна утицале на нешто слабију појаву обољења на гроздовима него на локалитету Топола. Као и на претходна два локалитета, и на локалитету Нештин и Радмиловац, примарна инфекција остварена је између 01.05 и 02.05, када је пало између 10 и 20 mm кише, при просечној температури око 13-14 °C и периодом влажења дужим од 15 сати. Јаке и обилне кише током јуна (од 03.06. до 22.06.) када је пало преко 130 mm кише и јула, када је пало преко 80 mm кише, на локалитету Нештин, утицали су на нешто слабију појаву симптома обољења на гроздовима и листовима, него на претходна два локалитета (Прилог 1, Графикон П1-3). На локалитету Радмиловац, јаке кише током јуна (> 100 mm) утицале су на нешто слабију појаву симптома на гроздовима и листовима, јер се претпоставља да је долазило до честог спирања колоније патогена са површине ових ограна.

Током 2021. године, огледи су такође изведени на сва четири локалитета. Значајна појава симптома обољења, у контролним варијантама, забележена је на локалитету Сланкаменачки Виногради, где се интензитет обољења на гроздовима кретао од 54,1 до 83,3% (100% заражених гроздова), док је на листовима био 51%. Нешто слабији интензитет обољења у односу на лок. Сланкаменачки Виногради, забележен је на локалитету Нештин, где је интензитет обољења на гроздовима био 35,65-49,57% (71-97% заражених гроздова), а на листовима 30,7%. Најнижи интензитети обољења на гроздовима (20,14-30,86%) и листовима (16,93-20,71%), утврђени су на локалитетима Топола и Радмиловац. На локалитету Сланкаменачки Виногради, услови за примарну инфекцију остварили су се између 12. и 14. маја (фенофаза диференцијација цвасти), када је пало нешто више од 15 mm кише, са периодом влажења од преко 24 сата, при просечној температури око 15 °C. До цветања, услова за инфекцију аскоспорама било је између 30. и 31. маја и 06. и 07. јуна. Крајем јуна и почетком јула (прецветавање и заметање бобица), два периода пљусковитих киша са нешто већом релативном влажноћу ваздуха (>60%) и температурама од 20 до 30 °C,

резултирале су секундарним инфекцијама бобица (Прилог 1, Графикон П1-2). Значајни услови за развој секундарних инфекција остварили су се и половином јула, од 14. до 18. јула (бобице величине зрна грашка до почетак додиривања бобица), те је и појава обољења на листовима била значајна, јер након тог периода није било већих падавина које би утицале на спирање инокулума са бобица и листова. На локалитету Нештин, услови за примарне инфекције аскоспорама остварени су између 15. и 17. маја, када је пало око 20 mm кише, са периодом влажења дужим од 10 сати, при просечној температури око 15 °C (Прилог 1, Графикон П1-3). Као и на локалитету Сланкаменачки Виногради, распоред падавина у другој половини јуна и првој половини јула, био је такав да је погодовао развоју секундарних инфекција, што је резултирало значајном појавом симптома обољења, како на гроздовима, тако и на листовима. На локалитетима Топола и Радмиловац, примарна инфекција остварена је између 12. и 13. маја (у фази диференцијације цвасти) када је пало између 10 и 15 mm кише, при просечној температури између 15 и 17 °C и периоду влажења листа дужим од 20 сати. Погодни услови за инфекцију остварени су и између 16. и 17. маја, при сличним условима спољне средине. Услови за развој секундарних инфекција на ова два локалитета били су неповољни, јер је током јуна укупно пало око 20 mm кише, са ниском просечном релативном влажношћу ваздуха (< 50%), што је резултирало слабијом појавом симптома обољења на гроздовима (Прилог 1, Графикони П1-1, П1-4). Услови за развој секундарних инфекција били су повољнији тек од друге половине јула, па је и проценат обољења на листовима био нешто већи од очекиваног на оба локалитета.

Током 2022. године огледи су изведени на два локалитета, Топола и Нештин. На локалитету Нештин, забележена је значајна појава обољења у контролним варијантама, са интензитетом обољења од 55,79 до 69,02% на гроздовима (99% заражених гроздова), односно 60,1% на листовима. На локалитету Топола, интензитет обољења је био нижи него на претходном локалитету, и то од 38,28 до 49,29% на гроздовима (82-90% заражених гроздова), односно 20,2% на листовима. Услови за примарну инфекцију, остварени су 17.05. (почетак диференцијације цвасти) на оба локалитета, када је пало >3,0 mm кише, са влажењем у трајању од око 7-8 сати при просечној температури око 20 °C. Јака инфекција остварена је између 28. и 31.05. (цвасти набубреле, пред цветање), са просечном количином падавина преко 10 mm, влажењем у трајању око 10 сати и просечној температури изнад 16 °C. Услови за секундарне инфекције били су погодни, нарочито од 10.06. до 25.06 (Прилог 1). У првој половини јула, слични услови спољне средине на локалитету Нештин утицали су на развој секундарних инфекција и значајну појаву симптома обољења како на гроздовима, тако и на листовима. Јака киша и временске непогоде почетком јула (05. и 06. јул) на локалитету Топола (Прилог 1, Графикони П1-3, П1-4), утицале су на нешто слабију појаву симптома на гроздовима и знатно каснију појаву симптома на листовима.

Током 2023. године, огледи су изведени на три локалитета, а највећи интензитети обољења на гроздовима утврђени су на локалитетима Сланкаменачки Виногради (46,36-64,86%) и Нештин (53,5-62,93%). На локалитету Топола, интензитет обољења на гроздовима био је нешто нижи и кретао се од 36,43 до 44,57%. На листовима интензитет обољења кретао се од 34,25% (лок. Топола) до 58,46% (лок. Нештин). Услови за примарну инфекцију на локалитету Топола и Нештин, остварени су 08.05.2023. године (почетак диференцијације цвасти), и тада је пало око 7 mm кише, са периодом влажења око 9-10 сати при просечној температури око 14 °C. На локалитету Сланкаменачки Виногради, прва слаба инфекција, остварена је између 14. и 15. маја, док је јака инфекција остварена између 17. и 18. маја (фаза диференцијације цвасти). Јака инфекција на локалитетима Нештин и Топола

остварена је између 14. и 18. маја (диференцијација цвасти), а услови за остваривање секундарних инфекција били су изузетно повољни, нарочито од 06.06. до 17.06. (прецветавање, бобице величине зрна пиринча) и 28.06. до 07.07, на локалитету Топола, односно 27.06. до 04.07. на локалитету Нештин (фенофаза бобице величине грашка, почетак додиривања бобица), што је резултирало значајном појавом симптома на бобицама и листовима. На локалитету Нештин, обилне кише између 19.07. и 22.07. одложиле су оцену на листовима за 10 дана, па је финална оцена изведена 01.08. На локалитету Сланкаменачки Виногради, услови за секундарне инфекције били су повољни у периоду од 05.06. до 16.06. (крај цветања, прецветавање и заметање бобица), и од 28.06. до 06.07. (бобице величине зрна грашка, почетак додиривања бобица), што је резултирало значајном појавом обољења на гроздовима и листовима.

6.2 Резистентност популација *E. necator* на QoI фунгициде

Фунгициди из групе стробилурина (QoI фунгициди) се у Европи и нашој земљи користе још од краја 20. и почетка 21. века, када су званично азоксистробин и крезоксим-метил уведени у примену на нивоу Европске Уније (**European Commission (EC), 1998a,b**). Неколико година касније, на тржишту су се појавила још два једињења из ове групе, трифлористробин и пираклостробин (**EC, 2003; 2004**). Широк спектар, висока ефикасност и нов начин деловања ових фунгицида допринели су њиховој раширеној употреби и обезбедили добру позиционираност на тржишту пестицида (**Miles et al., 2012**). Међутим, уско специфичан механизам деловања, у спречи са интензивном применом, индуковали су брз и прогресиван развој резистентности на ове фунгициде, и то само неколико година од њиховог увођења у примену, најпре код популација *Blumeria graminis* (**Bartlett et al., 2002; Ma and Michailides, 2005**), а недуго затим, пронађене су и прве популације *E. necator* резистентне на QoI фунгициде у САД (**Wilcox, 2005**). Резистентност код ових популација доведена је у везу са присуством G143A мутације, која је специфична за јако резистентне популације *E. necator* на фунгициде из групе стробилурина (**Baudoin et al., 2008**).

Појава симптома пепелнице током неколико узастопних година у виноградима у којима је спроведена редовна заштита, а где су QoI фунгициди чинили значајан део програма заштите, указивавала је на могући развој резистентности на ове фунгициде и била је прва индикација да је дошло до промене осетљивости код тих популација и у нашој земљи. Друга практична потврда ове претпоставке била је констатно ниска ефикасност QoI фунгицида у огледима ефикасности, који су изведени у периоду од 2019. до 2022. године у једном експерименталном винограду (Радмиловац) и три комерцијална винограда (Топола, Сланкаменачки Виногради и Нештин). Наиме, применом фунгицида LunaG на бази активне супстанце крезоксим-метил, у препорученој концентрацији (0,02%), ефикасност на гроздовима кретала се од 14,3 (лок. Топола) до 58,9% (лок. Сланкаменачки Виногради), док је на листовима ефикасност била у опсегу 31,9-63,4%. Интензитети обољења на гроздовима у варијанти са крезоксим-метилом достигали су 77,8% на локалитету Топола, где је чак 98,3% гроздова било са симптомима пепелнице (Графикон 2; Прилог 4). У већој концентрацији примене (0,03%) ефикасност на локалитету Нештин током 2022. године била је само 2,8% на гроздовима, односно 6,4% на листовима. Интензитет обољења на гроздовима у овој варијанти био је 61,3%, односно 56,4% на листовима (Графикон 2 и 3). Највећа ефикасност од 52,7% у концентрацији 0,03% забележена је на локалитету Топола 2021. године.

Јако ниска ефикасност установљена је и применом фунгицида Zato 50 WG на бази трифлуксистробина у препорученој концентрацији (0,015%), која је на локалитету Топола била негативна на гроздовима (-2,8 до -15,6%), а на локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради негативна и на листовима (-3,2 до -14,7%). Интензитет обољења на гроздовима достигао је и 90%, а готово 100% гроздова са симптомима пепелнице забележено је на локалитету Топола, током 2020. године (Графикон 2; Прилог 4). Интензитет обољења на листовима био је за 1-4% већи него у контролној варијанти (Графикон 3). Највећа ефикасност применом трифлуксистробина забележена је на локалитету Радмиловац и то у првој оцени на гроздовима 2019. године (66,1%). У свим осталим оценама ефикасност је била испод 40%. Негативна ефикасност која је забележена применом трифлуксистробина, може се објаснити чињеницом да је у питању фунгицид широког спектра који вероватно омета развој хиперпаразита *E. necator*, гљиву *Ampelomyces quisqualis*, која је редовно присутна у виноградама. Претпоставља се да, уколико трифлуксистробин елиминира овог микопаразита, резистентна популација *E. necator* остаје без природног непријатеља и може нормално да се развија. Последице, долази до значајније појаве обољења у третману са трифлуксистробином него у контролној варијанти, у којој је највероватније присутан овај микопаразит.

На локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради, ради утврђивања унакрсне практичне резистентности, коришћен је и фунгицид Cabrio Top на бази пираклостробина и метирама (који не делује на проузроковача пепелнице) у препорученој концентрацији (0,2%). Нешто виша ефикасност у односу на крезоксим-метил, забележена је применом пираклостробина, али та ефикасност је била далеко од задовољавајуће (27,3 до 68,4% на гроздовима, односно 44,8-59,0% на листовима), што је указивало да између тестираних QoI фунгицида највероватније постоји укрштена резистентност.

Подаци о ефикасности у пољу недвосмислено су указивали да је дошло до развоја резистентности на QoI фунгициде и да највероватније постоји укрштена резистентност између њих. Истраживање које су спровели **Hoffman et al. (2012)** указало је на појаву резистентности популација *E. necator* на стробилурине у Мађарској. Врло ниска ефикасност азоксистробина (<1 %), крезоксим-метила (3,8%), трифлуксистробина (8,9%) и пираклостробина (20,8%) у препорученим концентрацијама, у огледима који су изведени 2005. и 2006. године, потврдила је појаву резистентности. Слични резултати добијени су током 2009. и 2010. године у огледима који су такође изведени у Мађарској, у два експериментална винограда (**Taksonyi et al., 2013**). Наиме, није утврђена статистички значајна разлика између варијанти које су укључивале QoI фунгициде (азоксистробин, пираклостробин и трифлуксистробин) и контролне варијанте. Готово идентични резултати и исти образац када је реч о ефикасности, забележен је и у нашем истраживању. У истраживању **Warres (2021)** азоксистробин примењен у препорученој концентрацији није се статистички значајно разликовао од контролне варијанте. Интензитет обољења у третману са азоксистробином кретао се од 1,6 до 6,8%, а проценат заражених гроздова од 48 до 85%, док се у контроли интензитет обољења кретао од 3,9 до 17,4%, са процентом заражених гроздова од 69,6 до 90,5%.

Биотестови са лисним дисковима и молекуларне анализе коришћене су за потврду хипотезе да је дошло до развоја резистентности популација *E. necator* на QoI фунгициде у нашој земљи. Резистентност популација на ове фунгициде је у директној корелацији са развојем G143A мутације у *cyt b* гену. Ова мутација води ка потпуном губитку ефикасности QoI фунгицида у пољу и стварања стабилне и дуготрајне резистентности (**Miles et al., 2012**;

Rallos et al., 2014). Током ових истраживања, по први пут је потврђено присуство G143A мутације код популација *E. necator* у Србији. Том приликом коришћена је ARMS SYBR Green real-time PCR техника, коју су развили **Baudoin et al. (2008)**, а касније благо модификовали **Colcol and Baudoin (2016)**. По досадашњим доступним литературним подацима, ово је први пут да је за детекцију и квантификацију резистентног G143A алела коришћен MIC qPCR уређај и софтвер (mic qpcr version 2.12.7, Bio Molecular Systems Pty Ltd). Ова мутација је детектована код већине популација које потичу из комерцијалних винограда, са >95% алела за резистентност (код највећег броја изолата >99%) у митохондријалној DNK. Сви изолати код којих је детектовано >95% G143A алела били су високо резистентни у биотестовима и EC₅₀ вредности су биле >100 mg/l (крезоксим-метил) и >75 mg/l (трифлуксостробин). С друге стране, сви изолати код којих је заступљеност G143A алела била <5% били су осетљиви и такви изолати су водили порекло са локалитета где претходно нису коришћени ови фунгициди. Слични резултати забележени су и у истраживању које су спровели **Miles et al. (2012)**, где су изолати са > 95% G143A алела митохондријалне DNK могли да толеришу високе концентрације трифлуксостробина (> 100 mg/l) у биотестовима. **Warres (2021)** наводи да је у виноградима код којих је 100% узорака имало >95% G143A алела за резистентност, а где су уједно спроведени пољски огледи, забележена је ниска ефикасност азоксостробина. Резултати наших истраживања упућују на сличан закључак, јер је готово код 98% узорака који су прикупљени са локалитета где су изведени пољски огледи детектовано >95% G143A алела, те је и ефикасност стробилурина на свим локалитетима била ниска, што упућује на закључак да развој ове мутације код популација доводи до драстичног пада ефикасности фунгицида у практичним условима. Са локалитета где није забележена претходна историја примене фунгицида, прикупљено је и теститрано 8 изолата. Развој свих тестираних изолата је инхибиран препорученим концентрацијама крезоксим-метила и трифлуксостробина. За ове изолате утврђене су и EC₅₀ вредности које су се за крезоксим-метил кретале од 0,009 до 0,057 mg/l (просечно 0,032 mg/l), односно од 0,024 до 0,095 mg/L за трифлуксостробин (просечно 0,053 mg/l). У истраживању **Miller and Gubler (2004)** EC₅₀ вредности за трифлуксостробин код нормално осетљивих популација кретале су се од 0,00023 до 0,188 mg/l са просечном вредношћу од 0,013 mg/l код 35 тестираних изолата, док су у истраживању **Miles et al. (2012)** ове вредности биле од 0,001 до 0,159 mg/l.

Colcol and Baudoin (2016) и **Rallos (2012)** у односу на заступљеност G143A мутације, класификовали су изолате *E. necator* у две подгрупе, прву резистентну (> 99% алела за резистентност), и другу осетљиву (< 1% алела за резистентност). Међутим, у нашем истраживању креирана је још једна додатна подгрупа, тзв. мешана или „mix“ група, са %G143A мутације између 5 и 95%, обзиром да су код таквих популација установљени, како осетљиви тако и резистентни изолати, што такође наводи **Warres (2021)**. Изолати који су класификовани као мешани, прикупљени су из комерцијалних винограда где QoI фунгициди нису коришћени неколико претходних година или су коришћени једном, максимално два пута годишње. Такође, такви изолати потицали су и из екстензивних винограда (са редукованом применом фунгицида) где су QoI фунгициди ретко коришћени.

Узорци заражених листова и гроздова прикупљани су у периоду од 2019. до 2022. године, а на појединим локалитетима, као што су Радмиловац, Топола, Сланкаменачки Виногради и Нештин, узорци су прикупљани две до три године узастопно. На локалитетима Радмиловац и Топола, QoI фунгициди нису коришћени од 2018. године, док су на локалитетима Сланкаменачки Виногради и Нештин коришћени до 2020, односно 2021.

године. Евидентно је да проценат алела за резистентност у популацијама које нису излагане фунгицидима три године не опада у односу на оне које су константно излагане селекционом притиску QoI фунгицида, што упућује на закључак да је резистентност на QoI фунгициде изузетно стабилна, на шта указују и резултати **Rallos (2012)**. Исти аутор наводи, да без обзира што се стробилурини не користе неколико година (уз претпоставку да се за то време успоставља осетљива популација), постоји објективна сумња да, ако би се након тог периода изнова применили, да би резистентне јединке у популацији превазишле деловање ових фунгицида и да би знатно лакше рашириле алел за резистентност у оквиру популације за релативно кратак временски период.

Прва појава резистентних популација *E. necator* на QoI фунгициде описана је у истраживању **Wilcox (2005)** у САД, а недуго затим је real-time PCR техника искоришћена за детекцију G143A мутације (**Baudoin et al., 2008**). **Dufour et al. (2011)** су детектовали резистентне изолате *E. necator* и G143A мутацију у француским виноградима, али је заступљеност резистентних популација на нивоу државе била око 7%, а само у једном виногорју изнад 20%. У истраживању **Miles et al. (2012)**, G143A мутација била је раширена у преко 80% експерименталних винограда, док је само 20% изолата пореклом из комерцијалних винограда носило ову мутацију. Истраживање **Colcol and Baudoin (2016)** указало је на широку дистрибуцију резистентних изолата *E. necator* на QoI фунгициде, те је готово 82% тестираних изолата пореклом из Вирџиније, Северне Каролине, Мериленда и Пенсилваније окарактетисано као резистентно. Код највећег броја таквих изолата, утврђен је G143A алел за резистентност и то >99% митохондријалне DNK, што указује на високо резистентне популације. **Beresford et al. (2016)** су утврдили резистентне изолате проузроковача пепелнице на трифлуксистеробин у два виноградарска региона Новог Зеланда, углавном пореклом из комерцијалних винограда, и код таквих изолата EC₅₀ вредности за трифлуксистеробин биле су > 100 mg/l. Радна група која се бави проблематиком везаном за резистентност на QoI фунгициде у оквиру FRAC-а (**FRAC, 2014a**) наводи да су на подручју Европе од 2008. до 2014. године забележене високо резистентне популације *E. necator* на QoI фунгициде које воде порекло из Аустрије, Хрватске, Чешке, Француске, Немачке, Мађарске, Румуније, Словачке, Шпаније и Швајцарске. Затим 2015. године (**FRAC, 2015a**) утврђене су и јако резистентне популације пореклом из Италије, а 2017. године (**FRAC, 2017a**) и популације из Турске. До 2020. године (**FRAC, 2020**), резистентност на QoI фунгициде се раширила, па су детектоване високо резистентне популације у Грчкој и Украјини, а 2021. и 2022. године (**FRAC, 2021; 2022a**) утврђене су и средње до високо резистентне популације у Словенији и Португалу. **Warres (2021)** су код 84 од 101 изолата из комерцијалних винограда (око 83%) утврдили >95% G143A алел за резистентност, док је 100% тестираних узорака пореклом из експерименталних винограда било позитивно (%G143A > 95%). Резултати наших истраживања показали су да је популација пореклом из експерименталног винограда била у потпуности резистентна, са 100% изолата који су носиоци G143A мутације у високом проценту (> 98%), што је у складу са резултатима **Miles et al. (2012)**, **Rallos (2012)** и **Warres (2021)**.

С друге стране, 62 изолата од 78 тестираних (79,5%) који потичу из комерцијалних винограда широм Србије, носиоци су алела за резистентност у високом проценту (%G143A > 95%), док је преосталих 16 изолата (21,5%) сврстано у категорију мешаних. **Warres (2021)** наводи да је близу 83% изолата из комерцијалних винограда резистентно (%G143A > 95%), а 17% преосталих изолата осетљиво (%G143A < 5%). Од 62 тестирана изолата са високом пропорцијом алела за резистентност, свих 62 били су резистентни у биотестовима, док је од

16 izolata sa proporcijom G143A alela између 5 и 95% само 5 било осетљиво, а остали су окарактерисани као резистентни. **Colcol and Baudoin (2016)** су утврдили да су сви изолати код којих је %G143A > 1% били резистентни на азоксистробин у тестовима са лисним дисковима. До сличних закључака су дошли и **Miles et al. (2012)** где су сви изолати код којих је %G143A > 95% били високо резистентни на трифлуксистробин у биотестовима.

На основу добијених резултата, треба посебно истаћи појаву укрштене резистентности између крезоксим-метила и трифлуксистробина, с обзиром на то да је пораст izolata *E. necator* у тестовима са лисним дисковима забележен на свим тестираним концентрацијама ова два фунгицида. Без обзира на то што није уврштен у биотестове, пираклостробин је испољио ниску ефикасност у огледима у пољу на оба испитивана локалитета (Топола и Сланкаменачки Виногради), те можемо закључити да између свих QoI фунгицида постоји укрштена резистентност, на шта указује и радна група у оквиру FRAC-а. Добијени резултати непобитно упућују на чињеницу да је резистентност популација *E. necator* на QoI фунгициде широко распрострањена у виноградарским рејонима широм Србије, и да би ове фунгициде требало искључити из програма заштите винове лозе, поготово ако се зна да је резистентност раширена у комерцијалним виноградима најзначајнијих виноградарских рејона (Шумадија, Срем, Јужни Банат, Поморавље, Расина, Подунавље). Раширеност резистентних популација *E. necator* на стробилурине у комерцијалним виноградима потврђена је у истраживањима **Colcol and Baudoin (2016)** и **Warres (2021)**, док **Dufour et al. (2011)** и **Miles et al. (2012)** наводе мали проценат заступљености резистентних популација у комерцијалним виноградима, али свакако не искључујемо могућност да би садашња ситуација у истим виноградима била знатно другачија. С обзиром на то да и **FRAC (2023b)** наводи широку распрострањеност високо резистентних популација на QoI фунгициде широм Европе и да је та резистентност изузетно стабилна, односно да се временом не губи, без обзира на мањи селекциони притисак, примена ових фунгицида у контексту сузбијања *E. necator*, у будућности готово да нема перспективу.

6.3 Резистентност популација *E. necator* на азанафталене

Када је се појавио на тржишту, квиноксифен је био један од најефикаснијих фунгицида за сузбијање проузроковача пепелнице, и као такав, готово неизоставан део већине програма заштите винове лозе. Међутим, овај фунгицид је 2019. године повучен са листе дозвољених пестицида (**ЕС, 2018**). Како би се утврдило да ли је дошло до промене осетљивости популација *E. necator* и потенцијално детектовала резистентност и утврдило постојање укрштене резистентности између фунгицида из групе азанафталена, било је неопходно испитати ефикасност квиноксифена и проквиназида у пољским огледима, а затим тестирати њихову ефикасност и у лабораторијским условима. Резултати мониторинга од 2003. године, које је редовно спроводила радна група у оквиру FRAC-а задужена за азанафталене (AZN Working Group), потврђују да су изолати *E. necator* умерено до високо резистентни на ове фунгициде, откривени у неколико делова Европе, односно у појединим регионима Италије, Француске, Аустрије, Мађарске, Швајцарске, Немачке и Португала. У извештајима ове групе наводи се и да су се резистентни изолати развијали на дискриминаторним концентрацијама квиноксифена и проквиназида, док је при истим концентрацијама ова два фунгицида развој нормално осетљиве популације у потуности инхибиран (**FRAC 2014b; 2015b; 2016; 2017b; 2018a**). Оно што се такође наводи за те делове Европе, јесте да није дошло до смањења ефикасности квиноксифена и проквиназида у практичним условима, иако су изолати у лабораторијским тестовима класификовани као

умерено до високо резистентни. Још један куриозитет је и то да, према доступној литератури, не постоје подаци о слабој ефикасности азанафаталена у пољу (**Hoffmann et al., 2012; Feng et al., 2018**). У нашем вишегодишњем истраживању значајно смањење ефикасности квиноксифена у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе забележено је готово на свим испитиваним локалитетима. Ефикасност у сузбијању *E. necator* на гроздовима кретала се од 10,7 (лок. Радмиловац) до 72,6% (лок. Сланкаменачки Виногради), а на листовима од 21,2 (лок. Радмиловац) до 59,1% (лок. Сланкаменачки Виногради). Интензитет обољења на гроздовима третираним квиноксифеном био је преко 58% на локалитету Радмиловац 2019. године, при интензитету обољења у контроли од 69% (Графикон 4). Процент гроздова третираних квиноксифеном са симптомима обољења био је 85%, у односу на 88,5% у контролној варијанти. С друге стране, проквиназид је испољио високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима, и она је била углавном виша од 90%, чак је достигала и до 99%, осим на локалитету Топола (2019. године) и локалитету Нештин (2022. године) када је била 73,2%, односно 84,9%. Интересантна чињеница у испитивањима са проквиназидом јесте његова знатно слабија ефикасност у сузбијању *E. necator* на листовима. Наиме, ефикасност овог фунгицида кретала се од 47,0 до 87,1%, осим 2020. године на локалитету Сланкаменачки Виногради и 2021. године на локалитету Топола, када је ефикасност била 96,2, односно 90,7%. Ефикасност испод 50% забележена је, осим на локалитету Нештин 2022. године (47,0%), и на локалитету Топола 2019. године (48,7%). На локалитету Нештин 2022. године интензитет обољења на листовима третираним препаратом Talendo био је готово 32%, наспрам 60% колико је утврђено у контролној варијанти (Графикон 5). На осталим локалитетима ефикасност проквиназида на листовима се углавном кретала између 73 и 87%. Овај феномен и не треба толико да збуњује, с обзиром на то да су и у претходним истраживањима поједини аутори увидели разлике у погледу ефикасности фунгицида на гроздовима и листовима (**Hoffmann et al., 2012; Feng et al., 2018**). Резултати наших истраживања у контексту ефикасности проквиназида на гроздовима и листовима су у складу са резултатима истраживања које су спровели **Hoffmann et al. (2012)** у Мађарској, где је утврђена знатно нижа ефикасност проквиназида на листовима (43,1-60,9%) него на гроздовима (99,4%), тако да у овом случају не треба сумњати на потенцијални развој резистентности. Висока ефикасност проквиназида на гроздовима (90-100%) установљена је и у истраживањима **Pianella et al. (2006)** и **Sozzani et al. (2008)** у Италији.

Веома ниска ефикасност квиноксифена забележена је у експерименталном винограду (локалитет Радмиловац) и комерцијалном винограду (локалитет Топола), где постоји дуга историја примене овог фунгицида (готово 20 година). Нешто боља ефикасност квиноксифена забележена је на локалитетима Сланкаменачки Виногради и Нештин (оба винограда комерцијална), што се може објаснити чињеницом да квиноксифен није коришћен на овим локалитетима током неколико година пре почетка истраживања (бар 3-4 године), те је могуће да на овим локалитетима долази до поновног успостављања осетљиве популације. **Feng et al. (2018)** су утврдили да проценат резистентних изолата опада у одсуству селекционог притиска квиноксифена (три године узастопно изостављен из програма заштите), па је тако забележен пад са 65% резистентних изолата 2014. године, на 46% 2016. године. Оно што је збунило исте ауторе, јесте да проценат резистентних изолата није био у корелацији са ефикасношћу квиноксифена у практичним условима примене, односно у винограду. Наиме, иако је 2014. године утврђено 65% резистентних изолата из једног винограда, ефикасност квиноксифена није опала у истом винограду, само је током

2015. године установљена нешто нижа ефикасност на листовима, што је за азанафталене углавном и очекивано, како наводе аутори. Супротно, у нашем истраживању, ниска ефикасност квиноксифена у пољу кореспондира детекцији резистентних изолата у биотестовима. Раст тестираних изолата који потичу са локалитета Радмиловац и Топола, забележен је не само при препорученој концентрацији (50 mg/l) где је проценат инхибиције био 8,9-11,2%, већ и при четири пута већој концентрацији (200 mg/l) са процентима инхибиције 58-65,9%. У истраживању **Colcol and Baudoin (2016)** током 2013. године детектовани су резистентни изолати пореклом из винограда где је квиноксифен коришћен дужи период (од 2006. до 2013. године), и то два до четири пута годишње у програмима заштите. Тестирани изолати развијали су се при 2 пута већој концентрацији квиноксифена (100 mg/l) од препоручене, са процентима инхибиције који су се кретали од 10 до 50% што је био случај и у нашем истраживању где су се проценти инхибиције при 100 mg/l квиноксифена кретали од 30 до 70%. Изолати пореклом са локалитета без претходне историје примене фунгицида у потпуности су инхибирани при препорученој концентрацији квиноксифена. Код нормално осетљивих изолата (укупно 8 тестирано), EC_{50} вредности за квиноксифен кретале су се од 0,035 до 0,137 mg/l (просечна 0,078 mg/l), у сличном опсегу као у истраживању **Green and Gustafson (2006)** где су EC_{50} вредности биле од 0,02 до 2,6 mg/l или у истраживању **Colcol and Baudoin (2016)**: 0,006-0,066 mg/l (просечно 0,018 mg/l).

С обзиром на то да нам је фокус истраживања био да се утврди да ли проквиназид може успешно да се користи у заштити винове лозе од проузроковача пепелнице, неопходно је било испитати потенцијал за развој укрштене резистентности. У истраживању **Genet and Jaworska (2009)** откривено је да проквиназид углавном не може да инхибира изолате *E. necator* који су резистентни на квиноксифен и тада се дошло до закључка да између ова два фунгицида постоји укрштена резистентност. Супротно, изолати *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* резистентни на квиноксифен, били су осетљиви на проквиназид. Изолати из локалитета без претходне историје примене фунгицида били су у потпуности инхибирани коришћењем препоручене концентрације проквиназида. Код оваквих, нормално осетљивих изолата (укупно 8 тестирано), EC_{50} вредности су биле у опсегу 0,008 до 0,048 mg/l (просечна 0,031 mg/l). Уколико се ове вредности упореде са вредностима истраживања **Genet and Jaworska (2009)**, где се EC_{50} кретала од 0,0009 до 0,25 mg/l (просечно 0,0098 mg/l) са 86% изолата који су имали $EC_{50} < 0,03$ mg/l уочавају се одређене сличности. EC_{50} вредности у нашем истраживању биле су најсличније EC_{50} вредностима популација пореклом из Италије, где је просечна вредност била 0,021 mg/l. У нашем истраживању, забележен је пораст изолата при препорученој концентрацији проквиназида, међутим, знатно већа инхибиција код истих изолата, утврђена је за проквиназид него за квиноксифен. Изолати прикупљени са локалитета на којима су изведени огледи у пољу и из комерцијалних винограда са дужом историјом примене квиноксифена, развијали су се при препорученој концентрацији проквиназида (просечна инхибиција 61,5-85,9%). Радна група FRAC-а задужена за азанафталене, између осталог, наводи да су се изолати из комерцијалних винограда развијали при дискриминаторним дозама проквиназида, али да ефикасност у практичним условима није била нарушена. Стога је врло важно указати да, без обзира што су се изолати *E. necator* резистентни на квиноксифен, развијали при препорученој концентрацији проквиназида, ипак је ефикасност проквиназида у сузбијању *E. necator* била висока у огледима у пољу (нарочито на гроздовима). Ово у практичном смислу значи да се популација резистентна на квиноксифен може успешно сузбити применом проквиназида у

препорученим концентрацијама, што тврде и **Genet and Jaworska (2009)** у свом истраживању.

Узевши у обзир резултате истраживања који дефинитивно указују на нижу ефикасност проквиназида на листовима, позиција овог фунгицида у програмима заштите винове лозе од проузроковача пепелнице могла би да буде у периоду до фенофазе цветања, евентуално прецветавања, односно, док не крене интензивније формирање лисне масе. Његова примена у каснијим фенофазама би свакако имала ефекта у заштити гроздова, а како би се обезбедила боља и продужена заштита листа, проквиназид би требало комбиновати са сумпором. Оно што исто тако треба имати на уму када се говори о примени проквиназида, јесте да ће повлачење квиноксифена вероватно повећати употребу овог фунгицида у наредним годинама, а узимајући у обзир да је то једињење сврстано у групу са средњим ризиком од развоја резистентности, његова примена у складу са принципима антирезистентне стратегије била би од изузетног значаја.

6.4 Резистентност популација *E. necator* на арил-фенил кетоне

Хемијску групу арил-фенил кетона чине два фунгицида – метрафенон и пириофенон. Метрафенон је активна супстанца коју је BASF синтетисао 2004. године, а која се у заштити биља, првенствено у заштити стрних жита од проузроковача пепелнице, користи званично од 2006. године (**ЕС, 2006**). За заштиту винове лозе од проузроковача пепелнице у Европи, метрафенон се користи од 2007. године. Пириофенон је активна супстанца коју је синтетисала компанија ISK (Јапан), и у употреби је од 2014. године (**Kunova et al., 2016; Graf, 2017; ЕС, 2021**). Први подаци о резистентности на метрафенон датирају из 2008. године, када је група истраживача (**Felsenstein et al., 2010**) која се бавила програмом мониторинга, утврдила постојање умерено од високо резистентних изолата *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*. Резултати **Felsenstein et al. (2010)**, а касније и **Stammler et al. (2014)**, указали су на један важан податак, а то је да се умерено резистентне популације *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* могу успешно сузбијати применом препоручених доза метрафенона (150 g a.c./ha), док се резистентне популације не могу у потпуности сузбити чак ни са већом дозом метрафенона. Програми мониторинга осетљивости популација *E. necator* на арил-фенил кетоне изводе се на годишњем нивоу извођењем рутинских *in vivo* биотестова, у којима се користи прописана дискриминаторна концентрација од 10 mg/l метрафенона. Први налази умерено резистентних популација *E. necator* датирају из 2010. године (**Stammler et al., 2014**), а затим су, од 2011. до 2013. утврђени и резистентни изолати пореклом из Аустрије, Мађарске и Италије (**Kunova et al., 2016; Graf et al., 2017**).

У нашем истраживању, комерцијалне формулације метрафенона (Vivando) и пириофенона (Kusabi) испољиле су веома ниску ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима и листовима, на локалитетима Радмиловац и Топола. Ефикасност метрафенона у другој оцени на гроздовима на локалитету Топола кретала се од 8,5 до 10,2 %, а на локалитету Радмиловац 26,9-44,7%. Процент заражених гроздова на ова два локалитета кретао се од 45,5 до 100%, док се у контролној варијанти проценат заражених гроздова кретао од 75 до 100% (Графикон 6; Прилог 4). Ефикасност метрафенона на листовима била је у оспегу 23-48%, а интензитети обољења од 9 до 35%, док је у контроли интензитет обољења био у распону од 16 до 45% (Графикон 7). Слични резултати добијени су и за ефикасност пириофенона на гроздовима, која се на локалитету Топола кретала од 7,5 до 25,8%, а на локалитету Радмиловац од 19,3 до 49,7%. На листовима је чак забележена

и негативна ефикасност на локалитету Топола (-1,0%), где је интензитет обољења у варијанти са пириофеноном био 46,2%, а у контролној варијанти 45,4% (Графикон 7). Ефикасност пириофенона у сузбијању проузроковача пепелнице на листовима, на овим локалитетима, није прелазила 50%. Потпуно другачији резултати забележени су на локалитетима Сланкаменачки Виногради и Нештин, на којима је утврђена висока ефикасност метрафенона и пириофенона у сузбијању проузроковача пепелнице. На локалитету Сланкаменачки Виногради ефикасност ова два фунгицида била је изнад 96% на гроздовима, односно изнад 92% на листовима. На локалитету Нештин, испитан је само пириофенон, и његова ефикасност се кретала од 91 до 93% на гроздовима, односно од 89 до 94% на листовима.

Kunova et al. (2016) у истраживању спроведеном од 2011. до 2013. године, детектовали су резистентне популација *E. necator* у северној Италији, на два локалитета, што представља званично први налаз резистентности на арил-фенил кетоне у свету. У њиховом истраживању, метрафенон примењен у препорученој концентрацији (препарат Vivando у конц. 0,02%), обезбедио је добру ефикасност 2011. године (100% на листовима, >95% на гроздовима), задовољавајућу ефикасност 2012. године (>80% на листовима, 50-80% на гроздовима) и ниску ефикасност 2013. године (30-60% на листовима, <20% на гроздовима). Изолати прикупљени из ових винограда, у биотестовима развијали су се несметано при десет пута већој концентрацији метрафенона (1250 mg/l) од препоручене и очекивани фактор резистентности за ове изолате био је већи од 100. Такође, у истом истраживању, потврђена је и укрштена резистентност између метрафенона и пириофенона. Супротно овоме, у испитивањима које су спровели **Morando et al. (2014)** у виноградима регије Пијемонт, од 2011. до 2013. године, ефикасност метрафенона и пириофенона била је јако висока, >98% за метрафенон, односно >99% за пириофенон. **Cavazza et al. (2018)** су испитивали ефикасност метрафенона у винограду у околини Равене (регион Емилија-Ромања) и његова ефикасност на гроздовима, током 2016. године, кретала се од 84 до 92,1%, што указује да није дошло до промене у осетљивости популација *E. necator* у овим деловима Италије. **Graf (2017)** наводи да су за нормално осетљиве популације на метрафенон, EC_{50} вредности биле <1 до 4,7 mg/l (просечно 1,9 mg/l), док су за оне популације које су прикупљене са локалитета без претходне историје примене метрафенона, EC_{50} вредности биле у опсегу 0,09 до 0,39 mg/l (просечно 0,23 mg/l). С друге стране, резистентни изолати *E. necator* развијали су се несметано при 30 mg/l метрафенона, са очекиваним $EC_{50} > 30$ mg/l и факторима резистентности већим од 130.

Резултати наших истраживања су у великој мери слични са претходним истраживањима, па је развој изолата, који су прикупљени са локалитета где је утврђена ниска ефикасност арил-фенил кетона, забележен при концентрацијама метрафенона и пириофенона које су четири пута веће од препоручених. Додатно треба напоменути да су се изолати прикупљени из два винограда (Смедерево и Крњево), у којима се метрафенон користи дуже време, развијали при све три испитиване концентрације метрафенона, али и пириофенона, с тим да су проценти инхибиције били нешто виши у односу на популације које потичу из винограда где су извођени огледи ефикасности. Добијени резултати потврђују хипотезу да постоји укрштена резистентност између арил-фенил кетона, што указује да је њихов механизам деловања повезан, односно да делују на исти начин реметећи локализацију актина и хифалну морфогенезу.

У нашем истраживању, пораст тестираних изолата при препорученој концентрацији метрафенона (100 mg/l) и пириофенона (90 mg/l) готово да се није разликовао од контроле

и забележени су веома ниски проценти инхибиције (1,2-47,4% за метрафенон и 3,2-37,2% за пириофенон). При концентрацијама два пута већим од препоручених (200 и 180 mg/l), инхибиција се кретала од 25,7 до 48,1%, за метрафенон, односно 25,1-40,1% за пириофенон, док је при четири пута већим концентрацијама (400 и 360 mg/l) инхибиција била 50,5-67,8% за метрафенон и 45,8-69,5% за пириофенон. Нешто већи проценти инхибиције утврђени су за изолате који воде порекло са локалитета Крњево, па је, при два пута већој концентрацији метрафенона и пириофенона, инхибиција била 72,1% и 64,9%, односно при четири пута већој концентрацији 88,3% и 84,1%. Развој изолата прикупљених са локалитета где претходно нису примењивани фунгициди (6 изолата) потпуно је инхибиран при препорученим концентрацијама метрафенона и пириофенона. Утврђене EC₅₀ вредности за ове изолате биле су у опсегу 0,198-0,502 mg/l (просечно 0,346 mg/l), што је у сагласности са резултатима **Graf (2017)**. Процењене EC₅₀ вредности за резистентне популације биле су >100 mg/l метрафенона, односно >90 mg/l пириофенона.

Kunova et al. (2016) наводе да су изолати резистентни на метрафенон опстајали у експерименталном винограду, чак и када је метрафенон у потпуности елиминисан из програма заштите, што указује на то да, када се успоставе јединке резистентне на арил-фенил кетоне у једној популацији, таква резистентност је највероватније стабилна и дуготрајна. Са практичног становишта, на локалитетима и у регионима где се утврди ниска ефикасност арил-фенил кетона и где се потврди резистентност у биотестовима, њихову примену у програмима заштите требало би у потпуности избегавати. Међутим, да ли ће резистентност бити стабилна или ће доћи до поновног успостављања осетљивих популација након елиминисања ових фунгицида из програма заштите, зависи у значајној мери од структуре популације *E. necator*, пре свега од њене генетичке варијабилности. Па тако, код мешаних популација са бесполним и полним типовима, брзом разменом генетичког материјала и високим стопама мутације, може доћи до превазилажења резистентности (**Cortesi et al., 2005; Cortesi et al., 2008; Brewer et al., 2011; Mc Donald and Linde, 2002**). Анализом структуре популација *E. necator* и генетског диверзитета резистентних изолата могуће је сагледати повезаност између одређених хаплотипова и настанка резистентности, односно утврдити да ли резистентне јединке имају потенцијал да се шире у једној популацији (**Kunova et al., 2016**). Резултати истраживања **Graf (2017)** указују на константан пораст резистентних изолата на арил-фенил кетоне у Европи, али са прилично хетерогеном дистрибуцијом резистентних популација. Оно што може да забрињава, јесте и податак да су популације резистентне на метрафенон и пириофенон утврђене у нашем блиском окружењу, у Мађарској, и да су најрезистентније популације углавном детектоване у источнијем делу Европе (Чешкој и Словачкој), осим у Италији где су такође утврђене јако резистентне популације. Додатно брине и чињеница да су арил-фенил кетони релативно нови фунгициди, а да је прилично брзо дошло до развоја резистентности код популација *E. necator* на ове фунгициде. Због тога је од суштинског значаја, у наредном периоду, вршити опсежан мониторинг и управљати се принципима антирезистентне стратегије, како би ови фунгициди што дуже остали у употреби.

6.5 Резистентност популација *E. necator* на DMI фунгициде

Први фунгицид из групе триазола коришћен за сузбијање *E. necator* био је триадимефон, који је у САД регистрован 1982. године (**Rallos and Baudoin, 2016**). Затим је током 80-их и 90-их година 20. века уследило откриће фенаримола, триадименола,

миклобутанила, трифлумизола и тебуконазола, док је почетком 21. века у примену уведен и дифеноконазол. На нивоу Европске Уније, од 2019. године одобрена је употреба мефентрифлуконазола, активне супстанце која представља нову генерацију фунгицида из групе триазола (ЕС, 2023). ДМІ фунгициди су до пре 5-6 година, представљали најбројнију групу фунгицида, и то пре свега са аспекта бројности активних супстанци које се користе у заштити винове лозе од проузроковача пепелнице. Међутим, повлачењем из употребе појединих активних супстанци претходних година, попут триадименола, трифлумизола, миклобутанила и флутриафола, данас, за сузбијање *E. necator* регистровани су само дифеноконазол, тебуконазол, пенконазол и тетраконазол, чија је даља судбина прилично неизвесна. Осим што су једна од најбројних група фунгицида, триазоли су свакако најчешће коришћена група у програмима заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, и према резултатима вишегодишњег истраживања **Essling et al. (2021)**, у највећем броју случајева користе се 2-4 пута годишње, на појединим локалитетима чак и 2-3 пута узастопно, што свакако доприноси ризику од развоја резистентности услед повећаног селекционог притиска. У свету је, до сада, детектована резистентност *E. necator* на ову групу фунгицида и она је широко распрострањена у САД (**Ypema et al., 1997; Gubler et al., 1996; Erickson and Wilcox, 1997; Wong and Wilcox, 2002; Miller and Gubler, 2004; Colcol et al., 2012; Frenkel et al., 2015; Rallos and Baudoin, 2016; Warres, 2021**), у појединим деловима Европе, попут Аустрије и Француске (**Delye et al., 1997; Steinkellner and Redl, 2001; Dufour et al., 2011; Miazzi and Hajjeh, 2011**), Аустралији и Новом Зеланду (**Savocchia et al., 2004; Bersford et al., 2016**) и Индији (**Ghule et al., 2019**). Да би се стекао комплетан увид у осетљивост једне популације на ове фунгициде, неопходно је спровести детаљна испитивања извођењем огледа ефикасности у пољу, биотестова са лисним дисковима као и тестова на молекулраном нивоу, у циљу утврђивања присуства мутација које доводе до развоја резистентности.

Према најновијим подацима FRAC-а (**FRAC, 2023d**), ситуација у погледу осетљивости популација *E. necator* на ДМІ фунгициде широм Европе је стабилна, са мањим одступањима у појединим деловима, у смислу повећаних фактора резистентности, али се наводи да није нарушена њихова ефикасност у практичним условима примене. Међутим, огледи компаративне ефикасности фунгицида из ове групе, који су спроведени у периоду од 2019. до 2023. године на четири локалитета (Радмиловац, Топола, Сланкаменачки Виногради и Нештин), показали су значајна одступања од података FRAC-а. У огледима су коришћене комерцијалне формулације следећих фунгицида: дифеноконазол (Sekvenca) у концентрацијама 0,013, 0,02 и 0,03%; миклобутанил (Foton) у концентрацијама 0,015 и 0,03%; тебуконазол (Folicur) у концентрацијама 0,04, 0,06 и 0,08%; пенконазол (Toras) у концентрацији 0,025%; и мефентрифлуконазол (Revuona) у концентрацији 0,13%. На локалитету Радмиловац, ефикасност препарата Foton (конц. 0,015%) испитивана је 2019. и 2020. године, док је ефикасност препарата Sekvenca (конц. 0,013 и 0,02%) испитивана од 2019. до 2021. године. Додатно је 2021. године испитана и ефикасност препарата Toras (конц. 0,025%). Ефикасност миклобутанила у сузбијању *E. necator* на гроздовима у другој оцени, кретала се од 60,2 до 65,1%, где је интензитет обољења био 9,85-27,48%, док је на листовима ефикасност била 42,5-83,4% (инт. обољења 4,74-9,2%). У варијанти где је примењен фунгицид Sekvenca у препорученој концентрацији (0,013%), ефикасност на гроздовима била је висока и кретала се од 90,0 до 95,2%, односно од 84,4 до 97,8% на листовима, и статистички се значајно разликовала од ефикасности препарата Foton. У огледу из 2021. године, на истом локалитету, препарат Sekvenca примењен у концентрацији

0,02% испољио је високу ефикасност 91,7% на гроздовима, односно 93,0% на листовима, док је статистички значајно нижа ефикасност забележена применом пенконазола, како на гроздовима (72,7%), тако и на листовима (75,7%).

На локалитету Топола ефикасност дифеноконазола била је знатно другачија, док је за миклобутанил забележен исти тренд као и на претходном локалитету. Само прве године испитивања (2019. године), препарат *Sekvenca* у препорученој концентрацији испољио је високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице, која је била 92,3% на гроздовима и 95,5% на листовима. Друге године испитивања, дошло је до значајног смањења ефикасности која је била 57,5% на гроздовима и 82,6% на листовима. У трећој години (2021. година), поновљен је оглед са препорученом концентрацијом (0,013%), али је испитана ефикасност и повишене концентрације 0,02%. У препорученој концентрацији, препарат *Sekvenca* испољио је ефикасност од 60,7% на гроздовима, и 61,3% на листовима, док је у већој концентрацији примене, ефикасност била око 80% на гроздовима и листовима. Током 2022. године настављено је испитивање дифеноконазола, па је, осим концентрације 0,02%, испитана и концентрација 0,03%. Дрasticан пад ефикасности забележен је у концентрацији примене 0,02%, која је и на гроздовима и на листовима била око 38%. Значајно већа ефикасност постигнута је применом препарата *Sekvenca* у концентрацији 0,03%, која је 2022. године износила око 88% на гроздовима и 73,2% на листовима, док је 2023. године била значајно већа и то око 95% на гроздовима и око 90% на листовима. Препарат *Foton* у препорученој концентрацији (0,015%) је на истом локалитету испољио слабу ефикасност и на гроздовима и на листовима, која се кретала од 35,9 до 49,2% на гроздовима, и од 59,5 до 67,2% на листовима. При двоструко већој концентрацији (0,03%) ефикасност је била боља, око 77% на гроздовима и око 68% на листовима. Применом препарата *Toras* у препорученој концентрацији (0,025%), забележена је ниска ефикасност 2021. године, 63,2% на гроздовима и 65,1% на листовима, док је 2022. године ефикасност била драстично смањена, и износила је свега 20,7% на гроздовима и 16,3% на листовима. Ефикасност препарата *Folicur* (а.с. тебуконазол), на истом локалитету, испитивана је од 2020. до 2022. године. У првој години истраживања, овај препарат је примењен у препорученој концентрацији (0,04%), у другој примењен је, осим у препорученој, и у 50% већој концентрацији (0,06%), док је у трећој примењен у концентрацији 0,06% и дупло већој од препоручене (0,08%). У препорученој концентрацији, ефикасност се кретала од 60 до 63,8% на гроздовима и од 69,3 до 82,3% на листовима. У концентрацији 0,06% ефикасност је била од 84,7 до 90,5% на гроздовима, односно 65,5-87,6% на листовима, док је у концентрацији 0,08% забележена висока ефикасност на гроздовима (94,6%), и нешто нижа на листовима (83,1%). Добијени резултати указују да је дошло до промене у осетљивости популације *E. necator* на овом локалитету и да препоручене концентрације испитиваних фунгицида из групе триазола не могу ефикасно да сузбију *E. necator*, већ је неопходно повећати њихову концентрацију готово двоструко у односу на препоручену, како би се остварио задовољавајући ефекат.

На локалитету Сланкаменачки Виногради, ефикасност миклобутанила била је готово идентична као на претходним локалитетима. У препорученој концентрацији, препарат *Foton*, испољио је ефикасност од 44,9 до 48,9% на гроздовима и од 23,2 до 59,0% на листовима, док је при дупло већој концентрацији (0,03%) ефикасност била нешто већа - 67,3% на гроздовима и 62,9% на листовима. Ефикасност фунгицида *Sekvenca* у препорученој концентрацији 0,013% била је умерено висока, 87,9-88,6% на гроздовима и 79,9-84,5% на листовима, док је у концентрацији 0,02% ефикасност на гроздовима била висока од 92,4 до 98,6% , и умерена до висока на листовима, од 81,8 до 93,4%. Препарат

Folicur, друге године истраживања (2020. године), примењен је препорученој концентрацији 0,04% и његова ефикасност била је статистички значајно нижа у односу на препарат Sekvenca, 76,3% на гроздовима и 68,5% на листовима. Током 2021. године, исти препарат је примењен у повишеној концентрацији 0,06% и тада је забележена умерено висока ефикасност, 84,9% на гроздовима и 80,6% на листовима. Препарат Toras, примењен у препорученој концентрацији (0,025%), током 2021. године испољио је ефикасност од 77,4% на гроздовима, и од 63,7% на листовима. Подаци о ефикасности са овог локалитета, говоре да је дефинитивно дошло до промене у осетљивости популације *E. necator* на фунгициде из групе триазола, нарочито на миклобутанил, тебуконазол и пенконазол, док код дифеноконазола није дошло до значајног смањења ефикасности.

На локалитету Нештин, смањена ефикасност у сузбијању *E. necator* забележена је код примене миклобутанила, дифеноконазола и пенконазола. Препарат Foton, као и на претходним локалитетима, у препорученој концентрацији, испољио је ефикасност која није прелазила 50% на листовима и гроздовима. У двоструко већој концентрацији, такође је забележена ниска ефикасност 44,8% на гроздовима и 35,1% на листовима. Применом препарата Sekvenca, у препорученој концентрацији, забележена је ниска ефикасност, и то 65,1% на гроздовима, односно 63,6% на листовима. У концентрацији 0,02% истог препарата, 2021. године, постигнута је нешто боља ефикасност на гроздовима (око 77%) у односу на препоручену концентрацију, док ја на листовима ефикасност била 65,3%. Међутим 2022. године, у истој концентрацији, ефикасност је била нижа, како на гроздовима (68%), тако и на листовима (око 35%). Препарат Toras у препорученој концентрацији, испољио је јако ниску ефикасност, која се кретала од 32,2 до 48,8% на гроздовима и од 4,7 до 45,7%, на листовима. Резултати са овог локалитета, указују да је највероватније дошло до промене у осетљивости ове популације *E. necator* и да у порепорученим, чак и већим концентрацијама примене није могуће успешно сузбити патогена.

Оно што треба истаћи, јесте да је препарат Revuopa, на бази мефентрифлуконазола, у препорученој концентрацији (0,13%), на локалитетима Нештин и Топола, ефикасно сузбијао проузроковача пепелнице винове лозе, како на гроздовима (97,4-98,6%) тако и на листовима (93,8-96,4%), без обзира што је на овим локалитетима забележена ниска ефикасност других триазола. Овакви резултати охрабрују у смислу да највероватније нема укрштене резистентности између мефентрифлуконазола и других триазола, бар када је *E. necator* у питању, с обзиром на то да је код популација неких других патогена попут *Colletotrichum* spp., *Alternaria* sp., *C. beticola* и *P. xanthii* утврђена укрштена резистентност са дифеноконазолом и милобутанилом (Ishii et al., 2021).

Значајно смањење ефикасности миклобутанила наводи у својим резултатима **Warres (2021)**, где је прве године истраживања интензитет обољења на гроздовима у третману са миклобутанилом био 2,3% при интензитету обољења у контроли од 17,4%, а друге 5,7% при интензитету обољења у контроли од 12,5%. Оно што изненађује у овом истраживању јесте да је дифеноконазол прве године испољио слабију ефикасност, са интензитетом обољења 7,4%, наспрам 17,4% у контроли, али је друге године ефикасност била јако висока, са интензитетом обољења 0,2%, при појави обољења у контроли од 12,5%. На листовима, ефикасност миклобутанила била је негативна 2020. године, са 51,5% обољења у третману, наспрам 48,2% у контроли. Дифеноконазол је, на листовима, испољио знатно бољу ефикасност 2019. године, него 2020. године, са интензитетом обољења који је 2019. године био 0,7%, у односу на 43,4% у контроли, док је 2020. године интензитет обољења у третману са дифеноконазолом био 25,4%, а у контроли 48,2%. До драстичног пада ефикасности, како

наводе аутори, дошло је највероватније због процентуалног повећања Y136F мутације у популацији током година, која је у асоцијацији се резистентношћу популација *E. necator* на миклобутанил. Исти аутор наводи да нема укрштене резистентности између миклобутанила и дифеноконазола, јер се, како објашњавају **Baudoin et al. (2019)**, сматра да дифеноконазол по својој природи има знатно јачу активност и афинитет од миклобутанила, док други аутори пак наводе да укрштена резистентност између миклобутанила и дифеноконазола постоји (**Ghule et al., 2019**), и да је највероватније последица не само Y136F мутације, већ комбинације ове мутације са повећаном експресијом *CYP51* гена која настаје као последица замене аминокиселина на позицији 1119 (A1119C). Слаба ефикасност триазола у огледима у пољу, у нашем окружењу, односно у Мађарској, наводи се у истраживању **Hoffmann et al. (2012)** где је комбинација тебуконазол+триадименол+спироксамин испољила ниску ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на листу, која је била 26,24% и интензитетом обољења 60,67%, док је интензитет обољења у контроли био 82,11%. Података о значајно смањеној ефикасности триазола у огледима у пољу готово да нема, тј. подаци су ретки. У већини истраживања која су спроведена у последњих неколико година, триазоли се углавном могу користити за сузбијање *E. necator* у препорученим концентрацијама (дозама). Истраживање које су спровели **Cavazza et al. (2018)** у Италији, имало је за циљ да утврди ефикасност различитих триазола у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, па су у истраживању коришћени миклобутанил, тебуконазол, дифеноконазол, пенконазол и други фунгициди из ове групе. Резултати су показали високу ефикасност у сузбијању *E. necator* готово свих тестираних фунгицида у препорученим дозама (осим пропиконазола), током 2016. и 2017. године. Миклобутанил је испољио ефикасност 89,4% на гроздовима, тебуконазол 88,2-97,9%, дифеноконазол 96,2-99,5% и пенконазол 85,9-99,0%. Последња истраживања која су обухватала испитивања ефикасности триазола, а да су у блиском окружењу, датирају из 2004. године (**Миладиновић и сар., 2008**) у Црној Гори. У овом истраживању (од 2002. до 2004. године) ефикасност пенконазола била је висока, и кретала се од 86,2 до 96,9% на гроздовима, док је на листовима забележена максимална ефикасност (100%). Готово 18 година касније, у нашем истраживању ефикасност пенконазола је драстично смањена, па је тако на појединим локалитетима, попут Нештина и Тополе, забележена веома ниска ефикасност (< 35%), што је свакако показатељ да је дошло до промена осетљивости популација *E. necator*.

Поједини истраживачи наводе, да је резистентност *E. necator* на DMI фунгициде, врло комплексна, и да молекуларна детекција Y136F мутације није довољан показатељ резистентности једне популације овог патогена, већ је неопходно осим детекције мутације, утврдити да ли још неки механизам резистентности коегзистира у популацији (попут повећане експресије *sup 51* гена) и упоредо спровести *in vivo* тестирања са лисним дисковима (**Rallos, 2012; Frenkel et al., 2015**). Исте ставове износи и радна група у оквиру FRAC-а, задужена за спровођење мониторинга и давање препорука када су у питању DMI фунгициди. Они наводе да, утврђивање фреквенције мутације Y136F у *sup51* гену, није довољан показатељ стања осетљивости неке популације *E. necator* на DMI фунгициде (**FRAC, 2023d**). У истраживању, **Gubler et al. (1996)** просечне EC₅₀ вредности за нормално осетљиве популације на миклобутанил биле су 0,15 mg/l, и они су у овом истраживању користили хетерогене субкултуре *E. necator*, што је био случај и у нашем истраживању, с тим да су просечне EC₅₀ вредности за осетљиве популације овог патогена на миклобутанил у Србији биле 0,185 µg/ml. Популације које су претходно излагане миклобутанилу, имале су просечне EC₅₀ вредности 2,83 mg/l. Нормално осетљиви, моноспоријални изолати

различитих популација *E. necator* на миклобутанил и тебуконазол, према истраживањима **Colcol (2012)** имале су просечне EC_{50} вредности 0,008, односно 0,013 $\mu\text{g/ml}$, док је популација која је претходно изложена ДМІ фунгицидима имала просечне EC_{50} вредности 2,1 $\mu\text{g/ml}$ (миклобутанил) и 3,6 $\mu\text{g/ml}$ (тебуконазол), са просечним факторима резистентности 350 и 360, што је указивало на јаку корелацију када је у питању развој укрштене резистентности између ова два фунгицида. У нашем истраживању, просечне очекиване EC_{50} вредности за миклобутанил и тебуконазол, на локалитетима где су претходно коришћени ДМІ фунгициди са дужом историјом примене, биле су 32,21 и 11,75 mg/l са очекиваним фактором резистентности 174 за миклобутанил, односно 35 за тебуконазол. Резултати за миклобутанил су у сагласности са резултатима **Colcol (2012)**, с тим да су у нашем истраживању забележене веће EC_{50} вредности, имајући у виду да се ради у хетерогеним изолатима. Популације пореклом из Нештина, Тополе, Јагодине, Вршца, Крњева и Брезовца имале су високе очекиване просечне EC_{50} вредности са високим факторима резистентности за миклобутанил, и те вредности су кретале од 21,73 (Брезовац) до 80,67 mg/l (Нештин), са очекиваним факторима резистентности од 117 до 436, па су те популације означене као високо резистентне. Преостале популације, означене су као резистентне са очекиваним просечним EC_{50} вредностима од 7,85 (Аранђеловац) до 18,44 mg/l (Сланкаменачки Виногради) и факторима резистентности од 42 до 99. За тебуконазол очекиване EC_{50} вредности и фактори резистентности су били нижи, од 1,45 mg/L (Аранђеловац) до 23,46 mg/l (Топола), а фактори резистентности од 4 до 71. За дифеноконазол просечне очекиване EC_{50} вредности биле су још мање, и кретале су се од 0,23 mg/l (Аранђеловац) до 6,17 mg/l (Јагодина), а неколико популација је имало високе очекиване факторе резистентности, као што су Топола (35), Крњево (49), Нештин (52) и Јагодина (60). Високе EC_{50} вредности за миклобутанил и тебуконазол код резистентних изолата *E. necator* утврђене су у истраживању **Rallos and Baudoin (2016)**, и кретале су се од 0,2 до 104 mg/l за миклобутанил, односно од 2 до 137 за тебуконазол. Осим истраживања **Colcol (2012)**, управо је и претходно поменуто истраживање (**Rallos and Baudoin, 2016**), на неки начин потврдило везу када се говори о развоју укрштене резистентности између миклобутанила и тебуконазола. Наши резултати су сличнији резултатима **Rallos and Baudoin (2016)**, управо из разлога што су EC_{50} вредности у њиховом истраживању углавном, уз мања одступања, биле веће за миклобутанил, него за тебуконазол, што је случај и у нашем истраживању. То може да значи да су резистентне популације нешто осетљивије на тебуконазол него на миклобутанил, али дефинитивно је да, када дође до развоја резистентности на миклобутанил, долази и до промене осетљивости на тебуконазол, која највероватније води ка развоју резистентности.

С друге стране, развој резистентности на миклобутанил не значи аутоматски и развој практичне резистентности на дифеноконазол. Наиме, оно што је примећено на основу резултата који су добијени у нашим истраживањима, то је да код популација које су високо резистентне на миклобутанил ($RF > 100$), долази и до развоја укрштене резистентности са дифеноконазолом. Међутим, код оних популација које су резистентне или умерено резистентне, нема укрштене резистентности са дифеноконазолом. О томе сведоче и резултати истраживања у пољу, где је на локалитетима на којима су утврђене умерено резистентне до резистентне популације *E. necator* (Радмиловац и Сланкаменачки Виногради) на миклобутанил, ефикасност дифеноконазола била је висока у препорученој концентрацији 0,013% и концентрацији 0,02%, која је званично препоручена у Италији. Супротно томе, на локалитетима где је утврђена висока резистентност изолата на

миклобутанил (Нештин и Топола), ефикасност дифеноконазола је била задовољавајућа тек при концентрацији 0,03%. Истраживање које су спровели **Ghule et al. (2019)**, пружа сличан одговор о развоју укрштене резистентности између миклобутанила и дифеноконазола. У њиховом истраживању, код изолата резистентних на миклобутанил, EC_{50} вредности кретале су се у опсегу 1 до 39 mg/l, са факторима резистентности од 7 до 295, док су код изолата резистентних на дифеноконазол утврђене знатно ниже EC_{50} вредности, које су се кретале од 1 до 4,5 mg/l. Приметно је то да код изолата са умереним до благо повишеним факторима резистентности на миклобутанил, постоји знатно већа осетљивост на дифеноконазол. Слична правилност када је реч о осетљивости на миклобутанил и дифеноконазол, забележена је у нашем истраживању, дакле, код изолата који су били резистентни на миклобутанил, знатно ниже EC_{50} вредности утврђене су за дифеноконазол, што указује највероватније да између ова два фунгицида нема јаке укрштене резистентности. Иако, **Ghule et al. (2019)** наводе да постоји могућност да дође до развоја укрштене резистентности између ова два фунгицида, чињеница је да су изолати резистентни на миклобутанил били умерено резистентни на дифеноконазол, што би с практичног аспекта значило да се дифеноконазол може корисити за сузбијање *E. necator* у пољу. **Warres (2021)** наводи да резистентне популације на миклобутанил, дифеноконазол може успешно да сузбија, са чиме се можемо делимично сложити, јер је неопходно утврдити колико је та резистентност заступљена, односно, да ли је висока и стабилна, или умерена, узимајући у обзир да смо у нашем истраживању добили различите резултате за ефикасност дифеноконазола (од ниске до високе) на локалитетима где су утврђене резистентне популације на миклобутанил.

Како би се у потпуности објаснили феномени резистентности, потребно је узети у разматрање и молекуларну детекцију гена за резистентност. Молекуларна детекција мутације Y136F, може се користити као брз алат за потврду резистентности на триазоле. Међутим, треба бити прилично обазрив, јер у претходним истраживањима код појединих резистентних изолата, који припадају генетичкој групи В, мутација Y136F није утврђена (**Delye et al., 1997; Miazzi and Hajjeh., 2011**). Управо због ове чињенице, **Frenkel et al. (2015)** указују на могућност да и други механизми интерферирају у развоју резистентности *E. necator* на триазоле, тј. да осим ове мутације и друге промене у оквиру *sup 51* гена, попут повећане експресије овог гена, могу утицати на развој резистентности. Што је још важније, знање о механизму који је доминантан у одређеној популацији, омогућава и адекватнији одабир фунгицида, јер механизам резистентности, у великој мери, утиче на развој укрштене резистентности. Користећи real-time PCR методу и протокол за детекцију Y136F мутације, коју су предложили и развили **Dufour et al. (2011)**, у нашем истраживању успели смо да детектујемо ову мутацију код одређеног броја изолата у оквиру неколико популација. Оно што се може уочити, то је да дефинитивно број позитивних детекција ове мутације, не илуструје на прави начин степен резистентности једне популације. Наравно, ту треба бити врло опрезан, јер у оквиру појединих популација, тестирано је релативно мало изолата, тако да се не може бити искључив када се говори о развоју резистентности, јер би можда већи број тестираних изолата у оквиру једне популације, створио реалнију слику и пружио бољи увид у стање осетљивости. Међу популацијама код којих је у огледима у пољу и биотестовима потврђена резистентност, као што су Нештин и Топола, уочава се одређен тренд који се најбоље може илустровати на примеру популације из Тополе. Изолати су са овог локалитета прикупљани од 2019. до 2021. године, и током прве две године мутација је детектована код само 2 изолата од укупно 10 тестираних. Међутим, 2021. године, од 6 тестираних, чак код 5 је детектована мутација. Смањена ефикасност миклобутанила

забележена је већ прве године, и потврђена друге, док је дифеноконазол прве године у препорученој концентрацији испољио ефикасност преко 90%. Међутим, већ друге године је дошло до смањења ефикасности дифеноконазола и тебуконазола у препорученим концентрацијама, да би у трећој, 2021. години, пад ефикасности био најдрастичнији. Те године је управо и детектован највећи број изолата са мутацијом Y136F, што потенцијално указује да се број резистентних јединки у оквиру популације повећавао из године у годину, и када је дошло до превладавања у самој популацији, вероватно је дошло и до драстичног смањења ефикасности триазола. Такође је уочено да су изолати који су тестирани 2019. године били резистентни на миклобутанил и тебуконазол у биотестовима, али код највећег броја тих изолата није детектована претходно поменута мутација. Ово може да укаже на постојање другог механизма резистентности. Иако **Frenkel et al. (2015)** и **Rallos and Baudoin (2016)**, наводе да је код високо резистентних популација присутна мутација у комбинацији са повећаном експресијом гена која је у непосредној вези са A1119C променом на *sup51* гену, ипак не треба искључити могућност да је и A1119C промена једино присутна у популацији или је нека друга промена допринела развоју резистентности на миклобутанил. Чак се и у истраживању **Frenkel et al. (2015)** говори да је код одређеног броја изолата *E. necator* код којих је утврђена искључиво A1119C мутација забележена умерена до висока резистентност на миклобутанил. Готово је сигурно да A1119C не доводи до промене у аминокиселинској секвенци *sup51* гена али утиче на његову повећану експресију, што је свакако један од механизма резистентности *E. necator* на DMI фунгициде. У Нештину, прве године, од четири изолата само је код једног потврђена мутација, док је друге године код оба тестирана изолата утврђена Y136F мутација. На овом локалитету, већ од прве године истраживања (2020. године), било је јасно да је дошло до промена у осетљивости популације *E. necator*, узимајући у обзир ниске ефикасности које су утврђене за миклобутанил и дифеноконазол у препорученим концентрацијама. Значајно смањена ефикасност, нарочито дифеноконазола и пенконазола 2022. године, очигледно је повезана са већом фреквенцијом Y136F мутације у оквиру популације, и то највероватније у комбинацији са повећаном експресијом гена, јер **Rallos and Baudoin (2016)** наводе да до најстабилније резистентности у популацији долази када су ова два механизма истовремено присутна. Имајући у виду да су предвиђени фактори резистентности код изолата из Нештина били највећи код миклобутанила и дифеноконазола (не рачунајући локалитет Јагодина), претпоставља се да је код ове популације заступљена комбинација ова два механизма и да она нужно води ка развоју укрштене резистентности између свих триазола. На преостала два локалитета, где су изведени огледи у пољу мутације су ретко детектоване, код 2 од 11 изолата са локалитета Радмиловца и код 3 од 16 изолата са локалитета Сланкаменачки Виногради. Ова два локалитета су добри примери за разлике које постоје у развоју укрштене резистентности између триазола. На овим локалитетима, у биотестовима детектована је укрштена резистентност између миклобутанила и тебуконазола, али не и са дифеноконазолом. У прилог томе иду с једне стране, резултати огледа у пољу, који су то и потврдили, обзиром да је висока ефикасност постигнута применом дифеноконазола, а умерена и ниска применом миклобутанила и тебуконазола, и с друге стране, резултати молекуларних тестова, где није утврђена Y136F мутација у високом проценту. Ту се може видети једна веза, односно тренд када је развој укрштене резистентности у питању. Уколико популација постане резистентна на миклобутанил, вероватно ће постати резистентна на тебуконазол, без обзира да ли је дошло до развоја мутације или не, јер је највероватније други механизам резистентности у том случају заступљен. Чак и **Rallos and Baudoin (2016)**

говоре да је код изолата где није детектована мутација, утврђена повећана експресија гена. Међутим, уколико се мутација јави у високом проценту у комбинацији са повећаном експресијом *sup51* гена, највероватније ће доћи до развоја укрштене резистентности између свих триазола, што такође потврђују резултати **Rallos and Baudoin (2016)**. Добијени резултати за изолате пореклом из Јагодине, Крњева, Александровца (комерцијални виноград), Смедерева, донекле и Вршца, указују на високо присуство Y136F мутација у оквиру ових популација. Код ових популација утврђена је висока резистентност на DMI фунгициде, са најдрастичним примерима из Јагодине и Крњева, где је утврђена укрштена резистентност између свих тестираних триазола. Такође су и ови резултати потврда пређашње спекулације да је највероватније један механизам одговоран за резистентност на одређене DMI фунгициде и укрштену резистентност између појединих фунгицида, док је комбинација два механизма највероватнији узрочник укрштене резистентности између свих DMI фунгицида (**Colcol, 2012**). Осим мутација, одређену улогу у развоју резистентности, нарочито у Европи, има и генетичка структура једне популације *E. necator* (**Dufour et al., 2011; Miazzi and Hajjeh, 2011**). На европском континенту, заступљене су генетичке групе А и В. Обично се говори да је генетичка група А генерално осетљивија на фунгициде. Наиме, ова група је, како се у литератури наводи, углавном присутна у првом делу развоја винове лозе, и како се приближава берба, тако се повећава удео групе В. Такође се говори да је ова група повезана углавном са инфекцијом листова, односно да је агресивнија на листовима него на гроздовима, те да је мање присутна у континенталном него Медитеранском делу (**Montarry et al., 2009; Dufour et al., 2011**). **Miazzi and Hajjeh (2011)** наводе да код генетичке групе А није утврђено присуство Y136F мутације, јер је ова група углавном повезана са бесполним размножавањем, већ да је то карактеристика групе В. Уколико је однос између ове две групе уједначен, или је повећано присуство групе А, утолико је лакше сузбијање патогена. Међутим уколико је преобладајућа група В, која је иначе отпорнија на деловање фунгицида, и код које је повећан ризик од развоја резистентности због полног размножавања, сузбијање је отежано и нужно се повећава селекциони притисак фунгицида (**Miazzi and Hajjeh, 2011**).

Код популација проузроковача пепелнице винове лозе у већем делу Србије, које су претходних 10 и више година излагане DMI фунгицидима, приметно је да је дошло до промена у осетљивости, што је и потврђено спровођењем огледа у пољу, биотестова и молекуларних тестирања. Подаци о развоју укрштене резистентности су врло драгоцени јер пружају увид у то које фунгициде из групе триазола би могло, а који не би требало више користити у програмима заштите винове лозе. Треба напоменути једну позитивну чињеницу у будућој перспективи, а то се односи на податак да је миклобутанил званично повучен из употребе 2021. године (**ЕС, 2023**), а да је најизраженија резистентност популација *E. necator* утврђена управо на овај фунгицид. Проблем је свакако податак да је дошло до развоја резистентности између миклобутанила и тебуконазола, па чак и укрштене са дифеноконазолом, те би примену тебуконазола и дифеноконазола на локалитетима где је та појава потврђена, требало избегавати у програмима заштите. Тамо где нема укрштене резистентности тебуконазола са дифеноконазолом, дифеноконазол се може користити у концентрацијама 0,013-0,02% у комерцијално доступним формулацијама са садржајем ове активне супстанце у количини 250 грама по литру, наравно, уз обавезно поштовање мера антирезистентне стратегије. Такође, не треба ни занемарити чињеницу да је мефентрифлуконазол на локалитетима где је потврђена резистентност на дифеноконазол, испољио високу ефикасност у сузбијању *E. necator*, што је у сваком случају охрабрујући

податак, јер овај фунгицид представља погодну алтернативу за сузбијање резистентних популација на друге DMI фунгициде. Важно је скренути пажњу и на то да ће се највећи број триазола у наредних неколико година вероватно повући из употребе, обзиром да је велика већина њих сврстана у кандидате за супституцију на нивоу ЕУ. Међутим, уколико неки од њих остане у употреби, будућа истраживања треба фокусирати на испитивања да ли је могуће повратити пређашњу осетљивост популација на триазоле уколико се они неколико година изоставе из програма заштите. **Rallos (2012)** у својим истраживањима наводи, да је резистентност на триазоле квантитативне природе, и да је могуће да се у лабораторијским условима губи резистентност код популација са Y136F мутацијом, односно, на неки начин се опет успоставља нека врста осетљивости на тебуконазол, наравно, уколико се изостави његов селекциони притисак. Аутор наглашава да по том питању треба бити веома пажљив, јер повећана експресија *sur51* код популација које су претходно изложене тебуконазолу, се не губи, чак и када се тебуконазол потпуно изостави из програма заштите, што значи да је присуство повећане експресије конститутивне природе, па је упитно да ли се резистентност заиста губи или је то лажна слика. У сваком случају, даља испитивања треба да буду усмерена на утврђивање потенцијално нових механизма резистентности код популација *E. necator* на DMI фунгициде, као и на интензивном праћењу осетљивости популација, нарочито на мефентрифлуконазол, чија ће интеграција и примена у програмима заштите винове лозе, у будућности бити есенцијална.

6.6 Ефекти осталих група фунгицида у сузбијању *E. necator* у пољским огледима

6.6.1 Ефикасност SDHI фунгицида

У огледима компаративне ефикасности испитиване су комерцијалне формулације SDHI фунгицида на бази боскалида (Cantus), флуксапироксада (Sercadis) и флуопирама (Insajder).

Ефикасност препарата Cantus, који је примењен у концентрацији 0,12%, кретала се од ниске до високе у зависности од локалитета. Висока ефикасност овог фунгицида забележена је на локалитетима Сланкаменачки Виногради и Нештин, док је знатно слабија ефикасност утврђена на локалитетима Радмиловац и Топола. На локалитету Радмиловац, током 2019. и 2020. године, ефикасност овог фунгицида, на гроздовима, у другој оцени, кретала се од 69,9 до 77%, а интензитети обољења на гроздовима у овој варијанти, од 6,36 до 20,6% (25-42,5% заражених гроздова). На листовима, ефикасност се кретала од 45,9 до 59,4%, а интензитет обољења од 6,5 до 15,44%. На локалитету Топола, ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице била је значајно слабија, како на гроздовима, тако и на листовима. У другој оцени на гроздовима, ефикасност се кретала од 13,7 до 15,2%, са интензитетима обољења од 45,14 до 75,12% (81-98,5% заражених гроздова), те практично није било статистички значајне разлике између контролне варијанте (инт. обољења на гроздовима 52,36-87,89%) и варијанте Cantus (Графикон 10). На листовима, ефикасност је била 42,3-42,5%, а интензитети обољења 14,71-26,16% (Графикон 11). С друге стране, на локалитетима Сланкаменачки Виногради и Нештин, ефикасност боскалида у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима и листовима била је знатно већа, и кретала се од 93,6 до 98,9% на гроздовима, односно од 91,6 до 97,9% на листовима, при интензитету обољења у контроли који се кретао од 33,63 до 83,25% на гроздовима, односно 20,25-51,01% на листовима. Резултати добијени на локалитетима Нештин и Сланкаменачки Виногради су у сагласност са резултатима **Hoffmann et al. (2012)**, у чијем је истраживању утврђена висока

ефикасност боскалида, примењеног у количини 600 грама а.с. по хектару. У њиховом истраживању, ефикасност боскалида у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима износила је 99,3%, при интензитету обољења у контроли од 86,27%. На листовима ефикасност је била у оспегу 87,05-98,68%, при интензитету обољења у контроли 73,63-82,11%.

Ефикасност фунгицида Sercadis била је изузетно висока у свим огледима који су изведени у периоду од 2019. до 2023. године. На локалитету Радмиловац, од 2019. до 2021. године, овај фунгицид је у сузбијању *E. necator* испољио ефикасност од 99,8 до 100% на гроздовима, односно 98-100% на листовима. На локалитету Топола, од 2019. до 2023. године, ефикасност се кретала од 97,5 до 100% на гроздовима и 91,9-100% на листовима. Ефикасност овог фунгицида на локалитету Сланкаменачки Виногради била је максимална (100%) у свим годинама испитивања, на гроздовима, а на листовима се кретала од 96,2 до 100%. На локалитету Нештин, од 2021. до 2023. године, ефикасност на гроздовима кретала се од 98,1 до 100%, односно од 95,2 до 99,6% на листовима. Високу ефикасност флуксапироксида, изнад 90%, у сузбијању проузроковача пепелнице наводе и **Tabanelli et al. (2014)**. Ефекти флуопирама у сузбијању *E. necator*, примењеног самостално у готовој формулацији (препарат Insajder), испитани су 2023. године у две концентрације 0,03 и 0,05% на три локалитета (Топола, Сланкаменачки Виногради и Нештин). Ефикасност овог фунгицида у концентрацији 0,03% кретала се од 90,9 до 95,2% на гроздовима, односно од 82 до 88% на листовима. Значајно већа ефикасност утврђена је применом препарата Insajder у концентрацији 0,05%, и она се кретала од 98,5 до 100% на гроздовима, односно 93,8 до 95,8% на листовима, што указује на његову високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице.

Добијени резултати указују на потенцијалну промену осетљивости популација *E. necator* на боскалид, и то на два локалитета (Топола и Радмиловац), где је утврђена генерално ниска ефикасност овог фунгицида. С друге стране, висока ефикасност флуксапироксида на истим локалитетима, као и флуопирама на локалитету Топола, говори да између ова два фунгицида и боскалида нема укрштене резистентности. До резистентности на SDHI фунгициде код популација *E. necator* долази услед мутација у оквиру SdhB и SdhC подјединица у SDH комплексу. Две мутације су откривене у оквиру В подјединице (H242R и I244V) и две у оквиру С подјединице (G169D и G169S), и у односу на мутацију која се развије у оквиру једне популације, зависи и развој резистентности, односно развој укрштене резистентности (**Graf, 2017**). Карактеристична мутација за популације *E. necator* резистентне на боскалид јесте H242R мутација, када долази до развоја јаке резистентности на боскалид и укрштене резистентности са изопиразама, док популација овог патогена остаје осетљива на флуопирам и флуксапироксад (**Graf, 2017; Cherrad et al., 2018**). С обзиром на то да је ефикасност боскалида на локалитетима Топола и Радмиловац била ниска, нарочито на локалитету Топола, а да притом није нарушена ефикасност флуксапироксида и флуопирама, претпоставља се да је код ових популација дошло до развоја H242R мутације. Да би се и ова чињеница потврдила, неопходно је спровести *in vivo* биотестове у комбинацији са PCR анализама, што ће бити предмет неких будућих испитивања. За сада, може се спекулисати да је дошло до промена осетљивости појединих популација *E. necator*, имајући у виду слабу ефикасност боскалида на локалитетима Топола и Радмиловац, односно високу ефикасност на локалитетима Нештин и Сланкаменачки Виногради.

Уколико се детаљаније проучи историја примене фунгицида на локалитетима Топола и Радмиловац, може се видети да је претходних 10 година у програмима заштите коришћен боскалид углавном у формулацијама са пираклостробином (препарат Signum) и крезоксим-метилом (препарат Collis), а ређе самостално. У комбинацији са крезоксим-метилом, боскалид је примењиван у просеку 1-2 пута годишње за сузбијање *E. necator*, док је у комбинацији са пираклостробином примењиван најмање једном годишње за сузбијање *B. cinerea*. Боскалид је у обе ове формулације примењиван са QoI фунгицидима као партнерима, а на испитиваним локалитетима потврђена је резистентност на QoI фунгициде, као и укрштена резистентност између њих. Стога, уколико се претпостави да је резистентност на QoI фунгициде већ увелико била развијена у популацијама патогена на овим локалитетима, заштита винове лозе од *E. necator* у комбинацији боскалида са QoI фунгицидима заснивала се искључиво на боскалиду, што је свакако повећало селекциони притисак. Додатно, ако се зна да се боскалид у заштити винове лозе не користи искључиво за сузбијање *E. necator*, већ и за сузбијање *B. cinerea*, може се претпоставити да је додатан селекциони притисак иницирао промену осетљивости ових популација на боскалид (**Graf, 2017**). На овим локалитетима *E. necator* се редовно појављује и наноси значајне штете, нарочито на локалитету Топола, где је притисак патогена изузетно висок. То потврђују и резултати у пољским огледима, где су интензитети обољења у контроли били преко 80%, па је јако тешко обезбедити максималну ефикасност фунгицида у сузбијању овог патогена. Услед великог инфекционог притиска, а нарочито у повољним условима спољне средине, период између клијања спора и стварања конидија може се скратити на пет дана, што неминовно доводи до неколико додатних циклуса секундарних инфекција. То значи да би за заштиту требало користити фунгициде више пута него у стандардним програмима заштите, што свакако повећава селекциони притисак и води ка постепеном развоју резистентности (**Graf, 2017**).

Према FRAC-у први подаци о резистентности *E. necator* на SDHI фунгициде у Европи, датирају из 2014. године, када су детектовани изолати са G169D мутацијом у једном винограду у Италији (**FRAC, 2015c**), али није било промена у ефикасност фунгицида у практичним условима примене. Током 2016. године, утврђена је H242R мутација у Чешкој, Словачкој, Мађарској и Француској, али у ретким, изолованим случајевима (**FRAC, 2016b**). У мониторингу из 2017. године, иста мутација утврђена је и у Словенији, у појединим виноградима у Француској и на југу Италије у једном узорку (**FRAC, 2017c**). Током 2018. године, резистентност условљена H242R мутацијом се проширила у Мађарској, а у Грчкој су детектовани изолати са овом мутацијом. Узорци из једног винограда у Украјини, носили су G169D мутацију (**FRAC, 2018c**). У узорцима пореклом из Француске, Турске и Украјине, 2019. године детектована је H242R мутација, док је у Турској, осим ове мутације, утврђена и G169D мутација. У Украјини, је по први пут детектована I244V мутација, исте године (**FRAC, 2020b**). Оно што забрињава је податак, да је у Мађарској са умереном фреквентношћу током 2020. и 2021. године детектована H242R мутација, са тенденцијом ширења, што је и случај са Аустријом. Врло проблематичан је податак, да је током 2021. године забележена висока фреквентност G169D мутације у Грчкој, умерена фреквентност у нашем окружењу, односно у Мађарској, затим и у Турској, а ниска фреквенција ове мутације забележена је у Аустрији, Италији и Немачкој. Такође је утврђено постојање и I244V, као и G169S мутација у Немачкој, са умереном фреквентношћу (**FRAC, 2021b, 2022b**). Током 2022. године, по први пут у Европи, детектована је A83V мутација, у оквиру SdhC подјединице у изолатима пореклом из Француске и Немачке (**FRAC, 2023c**). Осим

A83V мутације у оквиру SdhC подјединице, утврђена је и G25R мутација (Stergiopoulos et al., 2022). На основу резултата ефикасности, претпоставља се да је на локалитету Топола и Радмиловац вероватно дошло до развоја резистентности на боскалид, за шта је највероватније одговорна мутација H242R, која резултира смањеном ефикасношћу боскалида у практичним условима.

Узимајући у обзир чињеницу да ће се SDHI фунгициди, нарочито активне супстанце новијег датума, попут флуопирама, флуксапироксада, бензовиндифлупира и пентиопирада, у будућности користити све више у програмима заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, односно да ће чинити окосницу тих програма, од суштинског значаја биће праћење осетљивости тих популација и креирања антирезистентних стратегија које ће продужити употребу ових фунгицида. Врло је важно смањити селекциони притисак ових фунгицида, јер због свог врло специфичног механизма деловања спадају у групу са високим ризиком од развоја резистентности, па уколико дође до развоја резистентности коју индукују поједине мутације, може доћи до драстичног смањења ефикасности ових фунгицида у практичним условима. У том контексту, мутације попут G169D могу утицати на развој укрштене резистентности између свих SDHI фунгицида, па посебну пажњу у мониторингу треба посветити развоју и оптимизацији молекуларних метода за детекцију мутација у оквиру SdhB и SdhC подјединица, јер оне могу пружити директан увид у статус осетљивости популације *E. necator*.

6.6.2 Ефикасност спироксамина и комбинације спироксамина са флуопирамом

Спироксамин је испитиван на сва четири локалитета, од 2019. до 2023. године, самостално у две комерцијалне формулације (Spirox и Strix) и у готовој формулацији у комбинацији са флуопирамом (препарат Luna Max). Ефикасност препарата Spirox испитивана је током 2019. и 2020. године, а ефикасност препарата Strix од 2021. до 2023. године. Препарат Spirox примењен у концентрацији 0,06% испољио је високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице током 2019. и 2020. године. Његова ефикасност на гроздовима, на локалитету Радмиловац кретала се од 87,8 до 98,5 %, на локалитету Топола од 87,1 до 99,2% и на локалитету Сланкаменачки Виногради од 87,7 до 97,1%. На локалитету Нештин, Spirox је испитиван 2020. године и ефикасност на гроздовима била је 92,8-95,6%, при интензитету обољења у контроли од 24,35 до 33,63%. На листовима, ефикасност се кретала на следећи начин: Радмиловац 77,5-97,4%, Топола 94,1-96,5%, Сланкаменачки Виногради 90,5-95,7%, Нештин 92,2%. Препарат Strix примењен у концентрацији 0,08% испољио је високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима и листовима. На локалитету Радмиловац, његова ефикасност је испитивана 2021. године и кретала се од 90,7 до 91,1% на гроздовима, док је на листовима била 90,1%. На локалитету Топола, испитивања су изведена од 2021. до 2023. године и ефикасност овог препарата се кретала од 94,7 до 97,8% на гроздовима, односно од 86,6 до 94,0% на листовима. Интензитет обољења у контролној варијанти на локалитету Топола, у истом периоду, био је 20,31-49,29% на гроздовима и 20,22-34,25% на листовима. Током 2021. и 2023. године, на локалитету Сланкаменачки Виногради, ефикасност препарата Strix кретала се од 95,4 до 98,8% на гроздовима, односно од 92,6 до 93,9% на листовима. Као и на локалитету Топола, и на локалитету Нештин испитивање ефеката препарата Strix, вршено је у периоду од 2021. до 2023. године, и утврђена је висока ефикасност на гроздовима и листовима. Наиме, на гроздовима, ефикасност се кретала од 93,7 до 98,7%, а на листовима

од 92,6 до 95,8%, при интензитету обољења у контроли који је био у опсегу 35,65-69,02% на гроздовима, односно 30,7-60,08%, на листовима. Оно што је приметно јесте да препарат Spigoх (500 g/l спироксамина) примењен у концентрацији 0,06% (300 грама а.с. по хектару) испољава високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице како на гроздовима, тако и на листовима. У случају већег притиска болести на гроздовима, што је било карактеристично за локалитете Радмиловац 2019. и Топола 2020. године, његова ефикасност је нешто испод 90%, док у случају нешто слабијег инфекционог притиска, ефикасност досеже и до 99%. На листовима, ефикасност препарата Spigoх углавном је била висока (>90%), осим 2020. године на локалитету Радмиловац, где је забележена нешто слабија ефикасност (77,5%). Препарат Strix који такође садржи 500 g/l спироксамина, испитиван је концентрацији 0,08% (400 грама а.с. по хектару) и његова ефикасност је, без обзира на то који је интензитет обољења забележен у контролној варијанти, била висока на гроздовима и на свим локалитетима изнад >90%. На листовима, ефикасност у сузбијању *E. necator* била је углавном изнад 90%, осим на локалитету Топола, када је у једној години испитивања, забележена ефикасност 86,6%.

У истраживању **Sozzani et al. (2010)** ефикасност спироксамина, примењеног у дози 390 грама по хектару (препарат Prosper 300 g/l спироксамина), у сузбијању *E. necator* на гроздовима, била је 82,2-92,8% при интензитету обољења 43,2-78,3%, 2008. године, а 2009. године 91,2-96,7%, при интензитету обољења 33-62,4%, што је у складу са ефикасношћу спироксамина у нашем огледу.

У истраживању **Bertocchi et al. (2008)**, при концентрацији препарата Prosper 300 CS од 100 ml/100l воде, ефикасност је била 99,1%, док је у концентрацији 130 ml/100l воде била нешто мања, 93,7%, али није утврђена статистички значајна разлика између ове две концентрације. Висока ефикасност препарата Prosper 300 CS у концентрацији 130 ml/100l, забележена је у истраживању **Cavazza et al. (2018)** и кретала се од 98,4 до 99,3%, при интензитету обољења 47,1-66,5%. У истраживању **Rubboli et al. (2014)** забележена је висока ефикасност спироксамина на гроздовима која се кретала од 93,3 до 94,3%, при интензитету обољења у контроли од 60,0 до 63,9%.

У комбинацији са флуопирамом, спироксамин је примењен у готовој формулацији, односно као препарат Luna Max (200 g/l спироксамина + 75 g/l флуопирама) у концентрацији 0,1%, што одговара дози од 200 грама по хектару спироксамина, односно 75 грама по хектару флуопирама, уколико се као максимални уторшак заштитне течности по хектару узме количина од 1000 литара. На локалитету Радмиловац, овај препарат је тестиран 2021. године и његова ефикасност се кретала од 98,1 до 99,3% на гроздовима, односно била је 96,6% на листовима. На локалитету Топола, испитивање ефикасности овог препарата вршено је од 2020. до 2023. године. Једино је 2020. године, ефикасност овог препарата на гроздовима била мања од 90% (88,9%), када је и притисак патогена био највећи (инт. обољења у контроли 87,89%). У свим осталим годинама ефикасност на гроздовима била је преко 95%, а достигала је и максималних 100%. На листовима, ефикасност се кретала од 93,6 до 98,9%. На локалитету Сланкаменачки Виногради, испитивања ефикасности препарата Luna Max вршена су 2020, 2021. и 2023. године. Ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима била је изнад 99%, док је на листовима забележена ефикасност од 96,5 до 98,9%. На локалитету Нештин, испитивања су спроведена током 2021, 2022. и 2023. године. Ефикасност на гроздовима била је изнад 97%, а на листовима од 94,6 до 98,3%. У поређењу са ефикасношћу препарата Spigoх (0,06%), статистички значајна разлика једино је утврђена на локалитету Сланкаменачки Виногради

2020. године, где је интензитет обољења на гроздовима у варијанти Luna Max био 0,07%, а у варијанти Spigoх 4,65%, док на листовима није утврђена статистички значајна разлика (Графикон 12). Поредећи ефикасност са препаратом Strix (0,08%), може се уочити статистички значајна разлика у ефикасности на гроздовима на локалитетима Топола (2021. и 2022. године), Сланкаменачки Виногради (2021. године) и Нештин (2021. и 2022. године). На локалитету Топола (2021. и 2022. године), интензитет обољења на гроздовима у варијанти Luna Max кретао се 0 до 0,4%, а у варијанти Strix 0,35-2,62%. На локалитету Сланкаменачки Виногради (2021. године), интензитет обољења на гроздовима у варијанти Luna Max био је 0,18%, а у варијанти Strix 1,92%. Током 2021. и 2022. године, на локалитету Нештин, интензитет обољења у варијанти Luna Max кретао се од 0,11 до 1,47%, а у варијанти Strix 1,34-4,25%. На листовима, статистички значајна разлика између ове две варијанте, уочена је на истим локалитетима. Интензитет обољења на листовима, на локалитету Топола, у варијанти Luna Max кретао се од 0,15 до 0,63%, а у варијанти Strix 1,1-2,7% (Графикон 13). На локалитету Сланкаменачки Виногради, утврђена је статистички значајна разлика 2021. године, када је интензитет обољења на листовима, у варијанти Luna Max био 0,35%, а у варијанти Strix 2,83%. Исте године, уочена је разлика и на локалитету Нештин, где је интензитет обољења у варијанти Luna Max био 0,39%, а у варијанти Strix 2,24%. Може се приметити, да комбинација спироксамина и флуопирама обезбеђује бољу ефикасност од спироксамина у самосталној примени. Међутим, када се погледају њихове ефикасности, разлика није тако изражена, обзиром да се применом обе варијанте обезбеђује висок ниво заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, што потврђују њихове ефикасности које су веће од 90%. Није утврђена статистички значајна разлика у погледу ефикасности између препарата Luna Max и Insajder (на бази чистог флуопирама), ни на гроздовима, ни на листовима. У резултатима претходних истраживања, аутори наводе високу ефикасност комбинације флуопирам + тебуконазол у сузбијању *E. necator*, која је износила 95,7-99,8% при интензитету обољења од 7,6 до 88,3% (Lavezzaro and Morando, 2014), док други наводе и максималну ефикасност (100%) ове комбинације (Amarjit et al., 2012).

Према FRAC-у, спироксамин спада у групу са ниским до средњим ризиком од развоја резистентности, али се препоручује управљање основним принципима антирезистентне стратегије, када је у питању овај фунгицид. За сада није утврђена појава резистентних популација на спироксамин у Европи, а интензиван мониторинг спроводи се редовно у Аустрији, Мађарској, Немачкој, Француској, Италији, Португалу, Шпанији, Хрватској и Швајцарској (FRAC, 2023d). Једини податак о практичној резистентности *E. necator* на спироксамин, датира са краја 20. века, када је утврђена промена осетљивости популација *E. necator* у Калифорнији (САД) на спироксамин (Ypema et al., 1997). Чињеница која додатно охрабрује је та да, иако припадају групи инхибитора биосинтезе стерола (FRAC G), до сада није утврђена укрштена резистентност са DMI фунгицидима код популација *E. necator* (Vielba Fernandez et al., 2020), тако да се спироксамин може користити самостално или као партнер фунгицидима из других група, за сузбијање популација код којих је дошло до промене осетљивости на DMI фунгициде.

6.6.3 Ефикасност цифлуфенамида и комбинације цифлуфенамида са дифеноконазолом

Ефекти цифлуфенамида (препарат Cyflamid 5 EW, примењен у концентрацији 0,05%) у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, испитивани су у периоду од

2019. до 2022. године на четири локалитета. Ефикасност овог фунгицида у сузбијању проузроковача пепелнице била је углавном висока, како на гроздовима, тако и на листовима. На локалитету Радмиловац испитивања су спроведена 2019. и 2020. године, и ефикасност цифлуфенамида кретала се од 88,4 до 98,8% на гроздовима, односно од 86,3 до 97,6% на листовима. На локалитету Топола, ефикасност препарата Суflamid током 2019. и 2021. године била је знатно већа (93,0-97,9% на гроздовима и 93,1-94,5% на листовима), него 2020. године (60,8-70,4% на гроздовима и 79,9% на листовима). Разлог за овако значајну разлику у ефикасности између година, с једне стране, лежи у чињеници да је интензитет обољења у контроли 2020. године био највећи (87,9% на гроздовима), а с друге стране у позицији овог третмана у оквиру огледног поља. Наиме, два понављања третирана препаратом Суflamid била су позиционирана у делу винограда где је блага удолина, са специфичном микроклимом где је годинама уназад највећи притисак патогена, па и резултати из 2020. године, за овај фунгицид нису одраз његове реалне ефикасности. На локалитету Сланкаменачки Виногради, ефекти препарата Суflamid испитивани су од 2019. до 2022. године и забележена је висока ефикасност као и на локалитету Радмиловац. Ефикасност се кретала у опсегу 89,8-97,2% на гроздовима, односно 87,7-95,3% на листовима. На локалитету Нештин, у периоду од 2020. до 2022. године утврђена је слична ефикасност као и на претходним локалитетима, и она се кретала од 89,7 до 92,2% на гроздовима, односно од 90,5 до 93,3% на листовима. Генерално посматрано, цифлуфенамид испољава високу ефикасност у сузбијању *E. necator* и на гроздовима и на листовима, с тим да је нешто боља ефикасност у огледима забележена на гроздовима. **Cortesi et al. (2012)** наводе високу ефикасност (око 97%) цифлуфенамида у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима, при интензитету обољења у контроли од 60,9%. **Rubboli et al. (2012)** су утврдили високу ефикасност цифлуфенамида у концентрацији 50 ml/100l воде, која се кретала од 98,5 до 100%, при различитим степенима инфестације у контролним варијантама (17,1-75,9%). Висока ефикасност цифлуфенамида утврђена је у истраживањима **Rubboli et al. (2014)**, која су спроведена од 2009. до 2013. године. У концентрацији 40 ml/100l воде, цифлуфенамид је испољио ефикасност од 94,5 до 98,0%, при интензитету обољења од 30,3 до 44,4%. У концентрацији 50 ml/100l воде, ефикасност се кретала од 94,3 до 99,3%, а интензитети обољења у контролним варијантама били су у опсегу од 60 до 92,8%. Током 2008, 2011. и 2013. године, **Viglione et al. (2014)** су испитивали ефекте цифлуфенамида у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе. Цифлуфенамид примењен у дози 400 ml/ha испољио је ефикасност 86,9% на гроздовима, односно 96,5% на листовима. У дози 500 ml/ha, ефикасност на гроздовима се кретала од 78,2 до 97,2%, при интензитету обољења у контроли 39,8-96,2%. **Morando et al. (2014)** наводе да је цифлуфенамид примењен у концентрацији 25 g a.s./100l воде испољио готово максималну ефикасност (> 99%), при интензитету обољења у контроли од 4,02 до 27,6%. Резултати претходних истраживања упућују на високу ефикасност цифлуфенамида у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, те се може закључити да су резултати нашег истраживања у сагласности са резултатима претходно поменутих аутора.

Готова формулација на бази комбинације цифлуфенамида и дифеноконазола, Cidely Top (125 g/l дифеноконазола и 15 g/l цифлуфенамида) испитивана је на локалитетима Топола (2021. и 2022. године), Нештин (2021. и 2022. године) и Сланкаменачки Виногради (2023. године). Испитивани препарат примењен је у концентрацији 0,1%. Ефикасност у сузбијању *E. necator* на локалитету Топола кретала се од 97,4 до 100% на гроздовима, односно од 92,7 до 97,5% на листовима. На локалитету Нештин, ефикасност је била нешто

нижа, и кретала се од 91,2 до 93,1% на гроздовима и од 90,5 до 94,9% на листовима. Током 2023. године, на локалитету Сланкаменачки Виногради, ефикасност препарата Cidely Top била је 97,3-98,5% на гроздовима и 95,5% на листовима. Није утврђена статистички значајна разлика у ефикасности препарата Cidely Top и препарата Cyflamid на гроздовима и листовима, осим на локалитету Топола, 2021. године, када је интензитет обољења у оцени на листовима у варијанти Cidely Top био 0,49%, а у варијанти Cyflamid 1,08% (Графикон 13). Међутим, уколико се упореди ефикасност препарата Cidely Top и препарата Sekvenca (на бази а.с. дифеноконазол), уочава се значајна разлика. На локалитету Топола, препарат Sekvenca примењен у концентрацији 0,02% (што одговара дози од 50 грама а.с. по хектару) испољио је ефикасност од 35,4 до 86,1% на гроздовима, односно 38,7-80,1% на листовима. У концентрацији 0,03% (што одговара дози од 75,8 грама а.с. по хектару) ефикасност се кретала од 87,6 до 90,1% на гроздовима, односно 73,2% на листовима. На локалитету Нештин, ефикасност препарата Sekvenca у концентрацији 0,02% кретала се од 68,0 до 83,2% на гроздовима, односно 34,8-65,3% на листовима. На оба локалитета, утврђена је статистички значајна разлика између фунгицида Cidely Top и Sekvenca, као и између фунгицида Cyflamid и Sekvenca. Једино на локалитету Сланкаменачки Виногради није утврђена статистички значајна разлика у ефикасности варијанте Cidely Top и варијанте Sekvenca (0,02%). Добијени резултати указују на високу ефикасност препарата Cidely Top (125 грама по хектару дифеноконазола и 15 грама по хектару цифлуфенамида) у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима и листовима. Нешто нижа ефикасност у односу на комбинацију дифеноконазол + цифлуфенамид, утврђена је у варијанти Cyflamid (25 грама по хектару цифлуфенамида), док је најнижа утврђена у варијанти Sekvenca (50 и 75,8 грама по хектару дифеноконазола). Ниска ефикасност дифеноконазола свакако указује на промену осетљивости популација *E. necator* на овај фунгицид. Можемо да претпоставимо, да у комбинацији дифеноконазол + цифлуфенамид, главни носилац ефикасности је цифлуфенамид. Међутим, треба истаћи да већа количина дифеноконазола (125 грама по хектару наспрам 40-50 грама по хектару који су препоручени за сузбијање *E. necator*) и нижа количина цифлуфенамида (15 грама по хектару наспрам 20-25 грама по хектару који су препоручени за сузбијање *E. necator*) у варијанти Cidely Top, указују на потенцијално синергистичко деловање ове две супстанце. Свакако, установљено је да се са повећањем концентрације дифеноконазола, повећава и ефикасност у сузбијању *E. necator*, а да би се говорило о потенцијалном синергистичком деловању неопходно је и одвојено испитати препарате на бази дифеноконазола (у количини 125 грама по хектару) и цифлуфенамида (15 грама по хектару) и упоредити њихову ефикасност у самосталној примени као и у комбинацији ове две активне супстанце. **Viglione et al. (2014)** испитивали су комбинацију цифлуфенамида и дифеноконазола у неколико доза: 15 грама по хектару цифлуфенамида + 30 грама по хектару дифеноконазола, 20 грама по хектару цифлуфенамида + 40 грама по хектару дифеноконазола и 25 грама по хектару цифлуфенамида + 50 грама по хектару дифеноконазола. У варијанти 15 грама по хектару цифлуфенамида + 30 грама по хектару дифеноконазола ефикасност на гроздовима је била 94,2%, а на листовима 99,9%, док је у варијанти где је цифлуфенамид примењен самостално у дози 15 грама по хектару, ефикасност била 76,3% на гроздовима, односно 96,6% на листовима. Податак о ефикасности на гроздовима указује да постоји синергистички ефекат ове две активне супстанце. Исти аутори наводе да су најбољи ефекти постигнути у односу 20 грама по хектару цифлуфенамида + 40 грама по хектару дифеноконазола (ефикасност 80,6-96,9% на гроздовима, 98,2-100% на листовима).

Према FRAC-у, цифлуфенамид спада у групу фунгицида са непознатим механизмом деловања и средњим ризиком од развоја резистентности. У свету, до сада, нису утврђене популације *E. necator* резистентне на цифлуфенамид (**Vielba-Fernandez et al., 2020**). До сада је резистентност на ово једињење утврђена једино код популација *Podosphaera xanthii* (**Pirondi et al., 2014; McGrath and Sexton, 2018**). Међутим, узимајући у обзир да се ради о релативно новом фунгициду, поготово на европском тржишту, и да је ризик од развоја резистентности средњи, неопходно је креирати одрживу антирезистентну стратегију за примену цифлуфенамида у будућности, како би се одложила потенцијална појава резистентности. Ово је нарочито важно из разлога што ће овај фунгицид ускоро чинити окосницу заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, те ће се нужно повећати његова употреба у наредним годинама, што повећава селекциони притисак и ризик од развоја резистентности код популација *E. necator*.

6.6.4 Ефикасност сумпора и мептил-динокапа

Ефекти сумпора у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, испитивани су на сва четири локалитета од 2019. до 2023. године. Ефикасност сумпора варира је у зависности од вегетационе сезоне, од изразито ниске до високе. Од 2019. до 2022. године у испитивањима је коришћена комерцијална формулација сумпора у облику вододисперзибилних гранула, препарат Kumulus DF, у концентрацијама 0,5 и 0,7%, док је 2023. године испитана течна формулација сумпора, односно препарат Flosul, у концентрацијама 0,5 и 0,7%. У испитивању 2019. године, ефикасност сумпора у сузбијању *E. necator* у другој оцени на гроздовима, кретала се од 49,2 (лок. Топола) до 84,0% (лок. Радмиловац), док је у првој оцени ефикасност била знатно већа - 71,1% (лок. Сланкаменачки Виногради) - 95,5% (лок. Радмиловац). На листовима, ефикасност је била висока у сва три локалитета, и кретала се од 92,4 (лок. Сланкаменачки Виногради) до 96,25% (лок. Радмиловац). Услови за деловање сумпора током 2019. године, били су оптимални, јер су током пролећа и лета, нарочито од половине маја, просечне температуре биле релативно високе и прелазиле су 16 °C, са високим максималним температурама које су претежно биле у оспегу 25-35 °C. Висока ефикасност сумпора 2019. године на гроздовима, на локалитету Радмиловац, осим што може да се доведе у везу са оптималним условима за његово деловање, може се приписати и количини падавина на овом локалитету која је била избалансирана, за разлику од локалитета Топола и Сланкаменачки Виногради, где су јаке кише током јуна месеца, вероватно утицале на спирање препарата са површине гроздова. С друге стране, висока ефикасност на листовима, која је забележена на сва три локалитета, указује на боље везивање сумпора за површину листа, односно, његово дуже задржавање, а самим тим и продужено деловање.

Супротно, у огледу спроведеном 2020. године утврђена је ниска ефикасност сумпора на сва три локалитета (Радмиловац, Топола и Сланкаменачки Виногради). На локалитету Сланкаменачки Виногради, у обе оцене на гроздовима, ефикасност сумпора је била негативна, -35,8 до -45,0%, са интензитетом обољења од 58,3 до 71,14%, док интензитет обољења у контроли није прелазео 52% (Графикон 14). Јако ниска ефикасност на гроздовима забележена је и на локалитету Топола, 9,9-13,9%, где је интензитет обољења у овој варијанти достигао и 75%, наспрам 88% у контролној варијанти, па није утврђена статистички значајна разлика између варијанте са применом сумпора и контроле. На Радмиловцу је забележена нешто већа ефикасност на гроздовима у односу на претходне локалитете, 67,6-76,9%, али је интензитет обољења у контроли био знатно нижи на овом

локалитету, и износио је око 28%. На листовима ефикасност се кретала од 49,0 (лок. Сланкаменачки Виногради) до 81,9% (лок. Топола). Главни разлог за ниску ефикасност сумпора у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима 2020. године, вероватно су релативно ниске температуре током пролећа, у периоду од 05. маја до 05. јуна. Наиме, већи део тог периода карактерисале су ниске просечне температуре, испод 15 °С, јако ниске минималне дневне температуре (од 3 до 10 °С) и не толико високе максималне температуре (до 25 °С у појединим данима), уз продужено влажење и високу релативну влажност ваздуха. За оптимално деловање сумпора неопходне су температуре од 20 до 28 °С, са минимумом од 16 °С, што током већег дела овог периода није био случај. То практично значи, да примена сумпора у овом периоду није имала већи значај, већ је депозит на листовима и цвастима представљао фунгицидну масу, без икакве функције, тако да је патоген несметано могао да оствари инфекцију. Једини бенефит примене сумпора 2020. године, огледа се у његовој ефикасности у сузбијању *E. necator* на листовима. Чињеница је да сумпор може да делује куративно, а узевши у обзир да је природа патогена таква да формира епифитну мицелију, а сумпор се добро везује за површину листова, његова примена у оптималним условима, што је 2020. године било у периоду од друге половине јуна до краја јула, допринела је заштити листова од проузроковача пепелнице.

У огледима 2021. године, ефикасност препарата Kumulus, испитана је на сва четири локалитета. На основу резултата може се приметити да је ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице на гроздовима, била задовољавајућа, док је на листовима била задовољавајућа до висока. На гроздовима, ефикасност се кретала између 60 и 80%, а на листовима од 75 до 96%. Нешто нижа ефикасност на гроздовима може се приписати нижим просечним температурама у периоду примарних инфекција, између 15. маја и 01. јуна, чешћим падавинама и продуженим влажењем. Међутим генерално висока ефикасност на листовима у вези је са оптималним температурама током јуна и јула и распоредом падавина. Треба истаћи и да је највећа ефикасност сумпора 2021. године, забележена на локалитету Сланкаменачки Виногради, где су услови за развој обољења били најоптималнији, односно где је интензитет обољења на листовима у контроли био око 50%. Чак и при интензитету обољења од 83% на гроздовима, задовољавајућа ефикасност (63,6-72,0%), узевши у обзир превентивну, односно несистемичну природу сумпора, остварена је на локалитету Сланкаменачки Виногради.

Огледи 2022. године изведени су на два локалитета (Нештин и Топола), а препарат Kumulus примењен је у концентрацији 0,7%. Добијени су различити резултати за ефикасност сумпора на гроздовима, док су на листовима на оба локалитета, ефикасности биле релативно сличне. На локалитету Топола, ефикасност сумпора у сузбијању проузроковача пепелнице кретала се од 73 до 79% на гроздовима, при интензитету обољења у контроли од 38 до 49%. С друге стране, на локалитету Нештин, ефикасност на гроздовима била је нижа, између 55 и 56%, али је интензитет обољења у контроли био знатно виши, и достигао је готово 70%. На листовима, ефикасност се кретала од 77 (лок. Топола) до 86% (лок. Нештин), при интензитету обољења у контроли од 20 до 60%. Разлог за нижу ефикасност сумпора на локалитету Нештин, осим у већем притиску патогена, односно појави обољења, лежи и у чињеници да су услови за примарне инфекције били знатно повољнији на овом локалитету него на локалитету Топола. У том периоду, на локалитету Нештин, јаче падавине у комбинацији са температурама између 12 и 20 °С, вероватно су утицале на смањену ефикасност сумпора на гроздовима. С друге стране, на локалитету Топола, у истом периоду, примарне инфекције су биле слабије, а просечне температуре

знатно више, што је резултирало и нешто слабијој појави обољења у контроли у односу на Нештин, али и знатно бољој ефикасности сумпора на гроздовима. Супротно, током јула, јаке и пљусковите падавине на локалитету Топола, утицале су на повећано спирање сумпора са површине листова, па је и отуда ефикасност на листовима била нешто мања, иако је интензитет обољења у контроли на листовима био мањи на овом локалитету него у Нештину. У Нештину, није било јачих падавина током јула, па су и услови за деловање сумпора били знатно повољнији, те су забележени и бољи ефекти сумпора у сузбијању проузроковача пепелнице на листовима.

Резултати претходних истраживања указују на сличне ефекте прашкастих формулација сумпора у сузбијању *E. necator*. У истраживању **Sozzani et al. (2010)**, ефикасност препарата Kumulus Тесно (80% сумпора, WG формулација) у количини од 8 kg/ha, кретала се од 26,9 до 47,8%, односно интензитет обољења на гроздовима, у овој варијанти износио је 17,2-45,6%, док је интензитет обољења у контроли био 33,0-62,4%. Слични резултати утврђени су и у нашем истраживању током 2020. године. Истраживања која су спровели **Braccini et al. (2010)**, базирала су се на испитивању различитих биолошких препарата у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе. Између осталих варијанти, коришћене су и прашкасте формулација сумпора, попут препарата: Thiovit Jet (80% сумпора, WG формулација) и Bentozol 60 (60% сумпора, WG формулација). Ефикасност препарата Thiovit Jet, који је током 2005. године примењен у концентрацијама од 300 до 800 грама на 100 литара воде, износила је 45%, при интензитету обољења у контроли од 56,6%. У концентрацији 800 грама на 100 литара воде, током 2006. године, ефикасност је била 97,5%, при интензитету обољења у контроли од 30%. Примењен у концентрацијама од 400 до 800 грама на 100 литара воде, исти препарат је 2007. године испољио ефикасност 94,1%, при интензитету обољења у контроли од 24,0%. Слабија ефикасност забележена је 2008. и 2009. године, где је, при интензитету обољења у контроли од 16,0 до 67,0%, препарат Thiovit Jet у истим концентрацијама као и 2007. године, испољио ефикасност 54,9-66,5%. Препарат Bentozol 60 у концентрацијама примене 400-600 грама на 100 литара воде, 2009. године испољио је бољу ефикасност од препарата Thiovit Jet, и она је износила 81,7%.

D’Arcangelo and Puccioni (2018) испитивали су ефикасност препарата Kumulus у сузбијању *E. necator* у концентрацији 400 грама на 100 литара воде, од 2013. до 2016. године, у Италији. Ефикасност на листовима кретала се од 94,1 до 98,9% при интензитетима обољења у контролама који су били од 5,2 до 22,2%. На гроздовима, у другој оцени, ефикасност се кретала од 90,6 до 99,0%, док су се интензитети обољења у контролама кретали од 38,1 до 69,3%. У нашим испитивањима забележена је слична ефикасност на листовима, док је ефикасност на гроздовима била знатно нижа, односно није прелазила 90%, осим у једној експерименталној сезони. И резултати других аутора указују на знатно слабију ефикасност препарата Kumulus на гроздовима, него на листовима. Резултати истраживања **Миладиновић и сар. (2008)** такође указују на знатно бољу ефикасност сумпора (препарат Cosan, примењен у концентрацији 0,5%) у сузбијању проузроковача пепелнице на листовима, него на гроздовима. Наиме, ефикасност сумпора на гроздовима од 2002. до 2004. године, кретала се 64,5 до 79,8%, при интензитету обољења у контроли од 62,2 до 100%. На листовима је забележена знатно виша ефикасност, 82,8-100%, а интензитет обољења у контроли кретао се од 9,2 до 90,3%. Вишегодишње истраживање **Wicks et al. (2003)**, указује на различите ефекте сумпора у сузбијању проузроковача пепелнице, како на гроздовима, тако и на листовима. Применом препарата Thiovit Jet у препорученој концентрацији 200 грама на 100 литара воде, интензитет обољења на листовима кретао се

од 1 до 10% при интензитету обољења у контроли од 10 до 26%, док је у дупло већој концентрацији 400 грама на 100 литара воде, ефикасност била виша, и интензитет обољења у третману са сумпором кретао се од 1 до 6%. На гроздовима, забележена је нижа ефикасност, нарочито у концентрацији 200 грама на 100 литара воде, где је проценат заражених гроздова у третману са сумпором био и до 70%, с тим да је проценат захваћене површине гроздова био мањи и кретао се од 1 до 10%. У концентрацији 400 грама на 100 литара воде, проценат заражених гроздова је достигао 70%, али је проценат захваћене површине гроздова био < 5%. Интензитет обољења у контроли на гроздовима кретао се од 7 до 35%, с тим да је у појединим годинама проценат заражених гроздова достигао 100%.

Caffi et al. (2010) су испитивали модел заштите винове лозе од проузроковача пепелнице применивши сумпор, од фенофазе бубрења пупољака до бобице величине зрна гршака. У експериментима је коришћен препарат Thiovit Jet у концентрацији 400 грама на 100 литара воде. Током 2008. и 2009. године, просечан интензитет обољења у контроли на гроздовима био је око 27%. Интензитет обољења у варијанти са сумпором, био је око 6%, што је указивало на његову генерално задовољавајућу ефикасност (> 75%). Током 2010. и 2011. године, просечан интензитет обољења у контроли био је око 15%, а у третману са сумпором 3% и ефикасношћу око 80%. Резултати овог истраживања, у поређењу са нашим резултатима, су генерално врло слични, и у нашем вишегодишњем истраживању, ефикасност сумпора на гроздовима је махом била између 60 и 80%.

На истим локалитетима, 2023. године, испитивани су ефекти течне формулације сумпора, препарат Flosul, који је на локалитету Топола примењен у концентрацији 0,5%, а на локалитету Нештин 0,7%. Запажена је изузетно висока ефикасност ове формулације сумпора у сузбијању проузроковача пепелнице како на гроздовима, тако и на листовима. На локалитету Топола, у концентрацији 0,5%, препарат Flosul испољио је ефикасност од 88,3 до 90,4% на гроздовима, и 92,1% на листовима. На локалитету Нештин, у концентрацији 0,7%, забележена је слична ефикасност, 88,9-92,8% на гроздовима, односно 91,3% на листовима. Интензитет обољења у Нештину био је већи како на гроздовима (око 63%), тако и на листовима (око 58%), у односу на интензитете обољења у Тополи (око 45% на гроздовима и око 34% на листовима). Током претходних година истраживања, није се догодило да ефикасност сумпора буде око 90% на гроздовима, осим 2019. године на локалитету Радмиловац. Ови резултати могу да указују на знатно боља својства течне формулације сумпора, односно препарата Flosul (800 g/l сумпора, SC формулација), у погледу везивања за површину бобица, у односу на препарат Kumulus DF (800 g/kg сумпора, WG формулација). Што се тиче ефикасности препарата Flosul на листовима, она је била очекивана, обзиром да је и са препаратом Kumulus DF, у претходним годинама постигнута висока ефикасност. Међутим, оно што додатно указује на предности течне формулације јесу метеоролошки услови током 2023. године, који су са аспекта примене и деловања сумпора, били релативно неповољни. Наиме, 2023. година је била изразито кишна, готово током читавог маја и већег дела јуна забележене су веће количине падавина. На локалитету Нештин, у мају је пало око 170 mm кише, а у јуну око 60 mm кише. На локалитету Топола у мају је пало око 80 mm кише, а у јуну око 50 mm кише. И поред оваквих услова спољне средине, препарат Flosul је испољио високу ефикасност у сузбијању *E. necator*, што говори да је течна формулација сумпора вероватно бољих карактеристика, нарочито у погледу заштите гроздова. Да би се то и потврдило, потребно је спровести бар двогодишње истраживање, које би дефинитивно указало да ли постоје разлике у погледу ефикасности између чврсте и течне формулације, обзиром да резултати претходних истраживања,

углавном упућују на закључке да нема разлике у ефектима између чврстих и течних формулација. У истраживању **Bergamaschi et al. (2010)**, током 2006. године, тестиране су две течне формулације сумпора: Thiorpron (825 g/l сумпора, SC формулација) у концентрацији 425, 800 и 1200 ml на 100 литара воде и Heliosoufre (700 g/l сумпора, SC формулација) 500 ml на 100 литара воде. Интензитет обољења у контроли кретао се од 3,2 до 85,0%. Препарат Thiorpron у концентрацији 425 ml на 100 литара воде испољио је ефикасност од 73,7 до 96,8%, у концентрацији 800 ml на 100 литара воде 99%, а у концентрацији 1200 ml на 100 литара воде од 89,5 до 100%. Препарат Heliosoufre испољио је ефикасност од 57,4 до 92,1%. Слични резултати забележени су и у истраживању **Deandrea et al. (2020)** у којем су испитиване течне формулације сумпора, односно препарати Heliosoufre S и Thiorpron у дозама 5 и 6 литара по хектару. Интензитет обољења у контроли кретао се од 20,8 до 44,8%, док је интензитет обољења у третману Heliosoufre S био 3,54-5,38% (ефикасност 83-88%), односно у третману Thiorpron од 3,81 до 7,44% (ефикасност 82-83%). Резултати вишегодишњег истраживања које су спровели **Braccini et al. (2010)**, показали су да не постоји статистички значајна разлика у ефикасности између течних и чврстих формулација сумпора, те су течне формулације сумпора Heliosoufre S (ефикасност 48,7-98,9%) и Liquizol M (ефикасност 58,5-95,3%), испољиле сличну ефикасност као и препарат Thiovit Jet (45,2-97,5%). **Wicks et al. (2003)** су закључили да не постоји статистички значајна разлика у ефикасности између течне и чврсте формулације сумпора у сузбијању *E. necator*, ни на гроздовима, ни на листовима.

Сумпор као *multi-site* фунгицид је погодан партнер у антирезистентној стратегији, а с обзиром на то да је фунгицид природног порекла, који притом поседује и релативно добру ефикасност, може се укључити у програме интегралне и биолошке заштите винове лозе. Узевши у обзир резултате ефикасности сумпора из вишегодишњих истраживања, закључак који се намеће јесте да сумпор испољава задовољавајућу, па чак и високу ефикасност у сузбијању *E. necator* на гроздовима, уколико се примени у оптималним условима. Висока ефикасност сумпора на листовима је нешто што га препоручује за третирања пред бербу, односно третирања у фенофазама од почетка затварања грозда до шарка, када може да се избегне употреба синтетичких пестицида, наравно уколико је обезбеђена претходно добра заштита бобица и листова. Оптимизацијом формулација сумпора, које би обезбедиле његово боље задржавање, односно везивање за површину бобица, омогућила би се већа ефикасност и могућност његове примене чак и у критичним фазама за инфекцију.

Ефекти комерцијалне формулације мептил-динокапа (Karathane Gold 350 EC) у сузбијању проузроковача пепелнице испитани су 2020. године на два локалитета (Топола и Сланкаменачки Виногради). На оба локалитета ефикасност мептил-динокапа била је ниска, и на листовима и на гроздовима. Ефикасност на гроздовима, кретала се од 13,8 до 36,5%, док је на листовима забележена нешто већа ефикасност на локалитету Топола (48,5%), у односу на локалитет Сланкаменачки Виногради (25,3%). Према FRAC-у, мептил-динокап је сврстан у групу фунгицида са ниским ризиком од развоја резистентности, те до сада нису утврђене резистентне популације *E. necator* на овај фунгицид, као ни резистентне популације других патогена. Разлоге за изненађујуће ниску ефикасност мептил-динокапа вероватно треба тражити у његовом начину деловања, а можда и у метеоролошким условима током огледне 2020. године. Мептил-динокап је изразити несистемик, који се не транслоцира у биљкама, већ се снажно везује за површину биљних органа (**Bacci et al., 2008**). Додатно, може се примењивати независно од температуре, и за разлику од сумпора, испољава добро деловање при ниским температурама (**Стевић, 2020**). Исте, 2020. године,

сумпор је очекивано испољио ниску ефикасност на ова два локалитета, узимајући у обзир ниске просечне температуре током веће дела маја и прве половине јуна, које су дефинитивно утицале на његово деловање. Оно што збуњује, јесте да је мептил-динокап, управо због чињенице да сумпор у оваквим условима спољне средине не делује, требало да испољи знатно већу ефикасност, него што је то био случај, јер његово деловање није везано за спољашње услове. С друге стране, мептил-динокап је несистемик, падавине исте године нису биле оптимално распоређене, односно јаке пљусковите падавине су током јуна вероватно утицале на његово повећано спирање, мада се зна да је релативно отпоран на спирање кишом (**Wittrock et al., 2010**). Мептил-динокап је примењиван у интервалу 10-14 дана и могуће је да се његова нижа ефикасност доводи у везу и са тим податаком, па је у условима какви су били током 2020. године, интервал између два третирања требало да буде краћи, бар када се говори о овом фунгициду. У истраживању **Viglione et al. (2014)** утврђена је релативно ниска ефикасност мептил-динокапа на гроздовима (61,8%) при интензитету обољења у контроли од 74,7%, док је на листовима ефикасност била висока (96,4%), а интервал између два третирања био је између 9 и 14 дана. Према доступним литературним подацима, мептил-динокап је у свим досадашњим истраживањима испољио високу ефикасност у сузбијању *E. necator*. Не постоје подаци који говоре о потенцијалној укрштеној резистентности са другим фунгицидима који интерферирају у процесима ћелијског дисања код гљива, попут QoI и SDHI фунгицида. Да би се утврдила евентуална промена осетљивости популација *E. necator* на мептил-динокап, неопходно је спровести опсежнија испитивања, како у пољу, тако и у лабораторији. Нека од будућих истраживања могла би бити усмерена на потенцијалну детекцију резистентности на овај фунгицид, што би, у случају потврде, био јединствен случај у свету.

6.7 Анализа различитих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице

Креирање одрживог модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице је дуготрајан и комплексан посао, који захтева вишегодишња истраживања и анализу бројних података. Специфична биологија и епидемиологија *E. necator* у значајној мери отежавају заштиту винове лозе и чине је врло изазовном. Правовремена примена високо ефикасних фунгицида у најосетљивијим фенофазама винове лозе, уз претходно познавање својстава тих фунгицида (механизма деловања, начина деловања, дистрибуције), добра су основа за стандардизацију програма заштите. Примарни циљ испитивања различитих модела јесте оптимизација сузбијања *E. necator*, у складу са принципима интегралне заштите и антирезистентне стратегије. Један од приступа у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе јесте коришћење различитих модела за предикцију појаве обољења, како би се правовремено реаговало и на неки начин редуковао број беспотребних третирања фунгицидима током једне сезоне, односно како би се оптимизовала заштита (**Caffi et al., 2012**). Међутим, **Thiessen et al. (2018)** наводе, да не постоји универзалан модел који би био примењив у свим регионима гајења винове лозе. Такође, модели су претежно засновани на метео подацима који иницирају инфекцију аскоспорама, и то су углавном подаци са оближњих метеоролошких станица, а често се дешава да у једном рејону интерферирају различити услови, па и подаци који се добијају са тих станица нису релевантни за цео рејон (**Redl et al., 2021**). Из тих разлога, неопходно је пронаћи решење за креирање модела заштите који ће моћи да се примени на сваку област гајења винове лозе, односно модел који

ће се заснивати на примени адекватних фунгицида у најосетљивијим фенофазама винове лозе према проузроковачу пепелнице.

У периоду од 2020. до 2022. године, вршено је испитивање 6 модела и стандардног програма заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, на локалитетима Топола, Сланкаменачки Виногради (2020. и 2021. године) и Нештин (2021. и 2022. године). Током 2020. године, испитани су ефекти 5 модела и стандардног програма заштите на локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради, док су у осталим годинама испитивани ефекти 6 модела и стандардног програма заштите. Разлика у моделима 2-6 се огледа у томе да је 2020. године, у другом третирању примењен препарат Karathane Gold 350 EC, а 2021. и 2022. године препарати Spirox (Strix) на локалитету Топола и Нештин, односно Vivando на локалитету Сланкаменачки Виногради. Ова промена је направљена јер се у огледима компаративне ефикасности 2020. године испоставило да Karathane Gold 350 EC не испољава задовољавајућу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице, па је исти препарат искључен из даљих испитивања. Код модела 3-5 препарат на бази сумпора (Kumulus DF) примењен је у првом и последњем третирању, док је код модела 6 примењен у првом и последња два третирања.

Применом модела 1, где су изостављена прва два третирања и последња два третирања, односно где су фунгициди примењени у најосетљивијим фенофазама винове лозе (ВВСН 57-75) добијени су различити резултати у зависности од године испитивања и локалитета. Тако је 2020. године ефикасност овог модела на локалитету Топола била 47,2% на гроздовима, односно 67,9% на листовима. Супротно, на локалитету Сланкаменачки Виногради, исте године, ефикасност је била знатно већа 92,5% на гроздовима и 86,9% на листовима. Разлог за овакву разлику у ефикасности можемо највероватније пронаћи у примени препарата Sekvenca. Наиме, овај препарат, примењен у препорученој концентрацији (0,013%) у студијама компаративне ефикасности је на локалитету Топола и Сланкаменачки Виногради током 2019. године, испољио високу ефикасност (> 90%), због чега је и уврштен у модел заштите 2020. године. Међутим, испитивања компаративне ефикасности су показала знатну разлику у ефикасности овог препарата 2020. године на локалитету Топола у односу на 2019. годину, јер је дошло до значајног смањења ефикасности (< 60%), а исти фунгицид је примењен у моделу заштите у осетљивој фенофази, тј. током цветања, што додатно поткрепљује нашу претпоставку. С друге стране, на локалитету Сланкаменачки Виногради, ефикасност препарата Sekvenca била је висока у испитивањима компаративне ефикасности, што је вероватно и допринело да дође до оваквих разлика. Већ током 2021. године, повећањем концентрације препарата Sekvenca, са 0,013 на 0,02%, остварени су и бољи резултати. Ефикасност овог модела на локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради, кретала се од 94,7 до 96,9% на гроздовима, односно 78,5 до 91,7% на листовима, док је на локалитету Нештин утврђена нешто слабија ефикасност 80,4% на гроздовима и 67,8% на листовима. На овом локалитету разлог за нешто слабију ефикасност модела 1 може се приписати највероватније нешто раније оствареним примарним инфекцијама, што је био и случај на истом локалитету 2022. године, где је ефикасност модела 1 била релативно ниска, односно 63,4% на гроздовима и 70,8% на листовима.

Код модела 2 заштите, у коме је изостављен први и последња два третирања, постигнути су слични ефекти као код претходно поменутог модела 1. На локалитету, Топола, ниска ефикасност овог модела забележена је најпре, као што је поменуто и код модела 1, због ниске ефикасности дифеноконазола. Додатно, у првом третирању код модела

2 коришћен је препарат Karathane Gold 350 EC у концентрацији 0,05%, који је очигледно у одређеном смислу деловао, али не довољно, а његова ниска ефикасност у пољским огледима исте године само потврђује ову претпоставку. Дакле, на локалитету Топола, постигнута је ефикасност 61,5% на гроздовима, и 84,4% на листовима. Супротно, на локалитету Сланкаменачки Виногради, забележена је висока ефикасност 94,7% на гроздовима и 90,3% на листовима, и поред тога што је примењен препарат Karathane Gold, чија је ефикасност била ниска у огледима компаративне ефикасности исте године на овом локалитету. Статистички значајне разлике у ефикасности није било између модела 1 и 2, где су интензитети обољења били 3,86 и 2,57% на гроздовима (Графикон 16), односно 4,03 и 3,01% на листовима. Дакле, мале разлике су утврђене, али статистички нису биле значајне, што имплицира да једно третирање препаратом Karathane Gold на самом почетку и није имало нарочитог значаја. Током 2021. године, када је на локалитету Топола, исти препарат замењен препаратом Spirox, резултати су били значајно бољи, са ефикасношћу од 96,0% на гроздовима и 94,0% на листовима. Међутим, статистички значајне разлике између модела 1 и модела 2 на овом локалитету није било, баш као што је био случај на локалитету Сланкаменачки Виногради 2020. године, што указује да прво третирање у моделу 2 није имало значајан утицај на укупну ефикасност. Међутим, исте године нешто другачији резултати су добијени у Нештину, где је третирање препаратом Spirox ипак утицао на повећање ефикасности, јер је примењен у периоду остваривања примарних инфекција, те је утврђена статистички значајна разлика између модела 1 и 2 у погледу ефикасности на гроздовима, док је на листовима ефикасност била у рангу модела 1. Код модела 2 интензитет обољења на гроздовима био је 5,79%, а у моделу 1 9,71%.

Када се говори о моделу 3, где је у првом третирању примењен сумпор, а сва остала третирања су извођена као у моделу 2, углавном није утврђена статистички значајна разлика између ова два модела, осим на локалитету Топола. На том локалитету, 2020. године, третирање сумпором допринело је повећању ефикасности, и у односу на модел 2 где је ефикасност била само 61,5% на гроздовима и 84,4% на листовима, у моделу 3 је забележена знатно виша ефикасност - 86,8% на гроздовима и 97,3% на листовима. Такође је и 2021. године на истом локалитету забележена максимална ефикасност код модела 3, док је нешто нижа ефикасност забележена код модела 2. На осталим локалитетима, није било статистички значајне разлике између модела 2 и модела 3. Такође, ни ефикасност модела 4 није се статистички значајно разликовала од ефикасности модела 3, разлике у ефикасности су биле 1-3% (1-2% у интензитету обољења) иако је код модела 4 примењено још једно додатно третирање у фенофази почетак додиривања бобица (ВВСН 77). Једино где су уочене разлике, то је ефикасност на листовима, која је за 4-5% била већа применом модела 4. Слично је и када се пореди ефикасности модела 4 и модела 5. Статистички значајне разлике није било између ова два модела када је реч о ефикасности на гроздовима и листовима, односно разлике су биле врло мале, иако је у моделу 5 изведено још једно додатно третирање препаратом на бази сумпора. Ови резултати указују на једну веома важну чињеницу, а то је да, након фенофазе бобице величине зрна грашка (ВВСН 75), даља третирања немају утицај на редуковање појаве обољења на гроздовима, односно уколико се изоставе третирања након ове фазе, неће доћи до статистички значајног повећања интензитета обољења на гроздовима. Мала разлика приметна је једино у ефикасности на листовима, што праткично значи да већ након фенофазе бобице величине зрна грашка, заштита винове лозе, до бербе, од проузроковача пепелнице може да се базира искључиво на примени сумпора, који испољава високу ефикасност у сузбијању обољења на листовима.

Важно је споменути и да су се ефекти модела 6 статистички значајно разликовали од модела 3, 4 и 5, са аспекта ефикасности на гроздовима. Разлика код модела 6 у односу на остале је та да је сумпор уместо спироксамина коришћен у другом третирању. Та једина разлика утицала је на смањење ефикасности, претпостављамо из два разлога. Први је да је сумпор мање ефикасан у односу на спироксамин у спречавању примарних инфекција, а обзиром да је то друго третирање сумпором изведено током маја, када је изражена флукуација температура, претпоставља се да је сумпор у таквим условима мање ефикасан, што је други разлог смањене ефикасности. У програмима заштите који су испитивали **D’Arcangelo et al. (2010)** сумпор је био позициониран у прва два и последња два третирања, а између су коришћени, у зависности од програма, у блоку од два до три третирања миклобутанил и проквиназид (први програм), миклобутанил и квиноксифен (други програм), миклобутанил и метрафенон (трећи програм), миклобутанил и комбинација проквиназид+тетраконазол (четврти програм). Резултати су показали да су сви програми били високо ефикасни (94-96,5%) када је сумпор примењен у прва два и последња два третирања, док су наша истраживања показала да у оваквом моделу постоји статистички значајна разлика у односу на најефикасније моделе. **Egger (2008)** је испитивао различите моделе заштите, где је сумпор стратешки позициониран у првом и последњем третирању, као што је у нашем истраживању био случај применом модела 5. Између ова два третирања коришћене су различите комбинације системичних фунгицида. Резултати истраживања су показали да не постоји статистички значајна разлика између модела са сумпором и стандардног програма заштите, што је у сагласности са резултатима нашег истраживања. У истраживању **D’Ascenzo et al. (2012)**, испитивано је неколико модела заштите, а један од модела укључивао је примену сумпора у првом и последња два третирања, док су између коришћени пенконазол и цифлуфенамид, у једном, и само цифлуфенамид у другом програму. Ефикасност овог модела била је висока, 92,2-94,9% на гроздовима, и 92,5-98,9% на листовима, при јакој појави обољења у контроли која се кретала од 83,1 до 94,5% на гроздовима, односно 28,7-35,0% на листовима. Дакле, на основу резултата претходних истраживања и резултата наших истраживања, може се уочити, да се применом сумпора у првом и последњем, или чак последња два третирања, уз употребу високо ефикасних фунгицида између, односно од диференцијације цвасти до бобице величине зрна грашка између, може ефикасно сузбити *E. necator*.

У стандардном програму заштите је, сасвим очекивано, остварена највећа ефикасност, јер је овај програм од самог почетка укључивао примену високо ефикасних фунгицида и њихову комбинацију са сумпором. Међутим, треба напоменути да углавном није утврђена статистички значајна разлика између стандардног програма заштите и модела 3,4 и 5. Једино је у Тополи 2020. и Нештину, 2022. године, утврђена статистички значајна разлика, док је у осталим годинама забележена слична ефикасност. Обзиром да су у моделима 3, 4 и 5 остварени одлични ефекти у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, желели смо да направимо и економску анализу ових модела и упоредимо их са стандардним програмом заштите. Од параметара који су коришћени за анализу, узети су трошкови препарата, дневница радника (трактористе) и цена горива (дизела) по хектару. Најеконичнији модел заштите, што је и логично узевши у обзир најмањи број изведених третирања, био је модел 3, где су се трошкови кретали од 22500 дин. (191,5 евра) до 27488 дин. (233,9 евра), односно у просеку 24333 дин. (207 евра) по хектару. Модел 4, који је био један од најефикаснијих, коштао је од 26517 дин. (225,7 евра) до 30167 дин. (256,7 евра) по хектару, у просеку 27587 дин. (235 евра) по хектару. Најскупљи модел био је модел 5,

наравно с разлогом, јер је примењено једно третирање више у односу на модел 4, па су се трошкови овог модела кретали од 28830 дин. (245,4 евра) до 30977 дин. (263,6 евра) по хектару, у просеку 29919 дин. (255 евра) по хектару. Уколико упоредимо испитиване моделе, може се уочити да је модел 3, као најекономичнији, био у просеку јефтинији за 28, односно 48 евра по хектару, у односу на моделе 4 и 5. Модел 4 је у просеку био јефтинији од модела 5 за 20 евра по хектару. Стандардни програм заштите је свакако био најмање економичан, и коштао је од 31420 дин. (267,4 евра) до 41757 дин. (355,4 евра), односно у просеку 35848 дин. (305 евра). У односу на остале моделе, у просеку, био је скупљи за 50-98 евра. Уколико ово прерачунамо на површину од 10 хектара, годишње применом претходних модела, може се уштедети од 500 до готово 1000 евра.

Caffi et al. (2012) су у истраживању које је спроведено у Италији од 2006. до 2008. године, испитивали могућности ефикаснијег и оптималнијег сузбијања *E. necator* применом модела који на основу метеоролошких фактора предвиђају инфекцију и појаву обољења. Користили су тзв. „low-risk“ и „high-risk“ модел и поредили га са стандардним програмом заштите. Утврдили су да „low-risk“ програм обезбеђује ефикасну заштиту винове лозе од проузроковача пепелнице, и да је у просеку у оквиру овог програма годишње примењено 3-4 третирања, што је у поређењу са стандардним програмом заштите са 5-7 третирања, значајно мање. Стандардни програм заштите, како истраживачи наводе, коштао је у просеку 221 еуро/ха годишње, док се применом „low-risk“ програма могло уштедети и до 56 евра у просеку по хектару годишње. Веома слични резултати утврђени су и у истраживању **Carisse et al. (2009b)**, у коме се наводи да применом модела који се заснива на степен-данима и предикцији разношења аскоспора, тј. остваривању примарних инфекција на основу степен-дана, може се редуковати број третирања годишње са 6-9, колико је у стандардним програмима заштите, на 2-5, чиме се употреба фунгицида смањује за 40-55% и омогућава знатно већа уштеда. У истраживању **Valdes-Gomez et al. (2017)**, испитивана је стратегија заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, и то применом два обавезна третирања у фенофази цветања и 12-14 дана касније, једног тзв. „превентивног“ третирања пре фенофазе цветања, тј. у моменту када се стекну услови за остваривање примарне инфекције или једног третирања 24 дана након цветања. У првом обавезном третирању, коришћена је комбинација азоксистробин+дифеноконазол, а у другом трифлуксистробин+тебуконазол, а ван тога у превентивном или касније куративном третирању коришћени су сумпор и тебуконазол. Таква стратегија заштите поређена је са програмом заштите где је сумпор коришћен у алтернацији са комбинацијом азоксистробин+дифеноконазол (7-9 третирања годишње) и традиционалним програмом заштите (14 третирања годишње). У контроли на гроздовима, интензитет обољења се кретао од 2,4 до 38,7%, у испитиваној стратегији заштите 0,1-2,1%, док је у програму заштите интензитет обољења у свим годинама био мањи од 1,5%, и нису се статистички значајно разликовали од традиционалног програма заштите. Аутори наводе, да се применом стратегије са редукованим бројем третирања и програма заштите где је сумпор коришћен у алтернацији са комбинацијом азоксистробин+дифеноконазол може уштедети и до 280 долара годишње по хектару. Слични резултати у погледу ефикасности, добијени су у истраживању **Kast and Bleyer (2011)**, који су испитивали ефекте два режима заштите винове лозе од проузроковача пепелнице. Први режим је подразумевао примену 3 третирања у најосетљивијим фенофазама – од диференцијације цвасти до бобице величине зрна пиринча (ВВСН 55-73), а други режим је подразумевао примену 7 третирања годишње од фенофазе 8 развијених листова до затварања грозда (ВВСН 18-79). Ефикасност првог режима кретала се од 78,6 до

100%, док је код другог режима ефикасност била нешто већа 88,9-100%. Утврђено је да је највећа ефикасност у првом режиму постигнута када су у блоку од три третирања примењени трифлуксостробин (три пута узастопно), проквиназид-пираклостробин-проквиназид и метрафенон-пираклостробин+метрафенон (95,5-100%), док је најмања ефикасност постигнута када су три пута узастопно примењени миклобутанил, односно комбинација квиноксифен+миклобутанил (78,6-90,5%). Ово истраживање је, на неки начин потврдило и наше претпоставке, да се применом високо ефикасних фунгицида у фенофазама диференцијације цвасти, почетка цветања, прецветавања и између прецветавања и бобице величине зрна грашка може постићи висок ниво заштите винове лозе од *E. necator*. **Warneke et al. (2019)** чак наводе да се правовременом интеграцијом изразито системичних фунгицида, попут флуопирама, у програме заштите може значајно смањити појава обољења и постићи висока ефикасност, уколико се овај фунгицид примени у блок третману у фенофазама крај цветања-прецветавање/бобице величине зрна пиринча (BVCH 69-73).

На основу свих резултата и података који су изнети, у заштити винове лозе од проузроковача пепелнице, сву пажњу треба усмерити на одабир високо ефикасних фунгицида у најосетљивијим фенофазама, односно од диференцијације цвасти/цвасти набубреле до бобице величине зрна пиринча/грашка (BVCH 55/57 – 73/75). Уколико се у овом периоду спроведе адекватна заштита, може се очекивати висока ефикасност која последично води ка добијању високо квалитетних гроздова, што је основни циљ у производњи. Апликација сумпора на самом почетку формирања листова, у оптималним условима (> 16 °C), представља добру полазну тачку за заштиту винове лозе, јер се овим третирањем утиче на смањену појаву *E. necator*, а при том је сумпор врло економичан фунгицид. Ову констатацију потврђују и резултати наших истраживања из Нештина 2022. године, где је у контроли 2 сумпор примењен на самом почетку, а затим су третирања фунгицидима изостављена до фенофазе почетак додиривања бобица, и може се уочити да је одређени ефекат постигнут, односно да је за 13% била нижа појава обољења у овој контроли него у контроли која је од почетка нетретирана. Након примене сумпора, од фенофазе диференцијације цвасти до фенофазе бобице величине зрна грашка, висока ефикасност постиже се применом спироксамина, флуксапироксада, флуопирама, проквиназида и дифлуфенамида, а на локалитетима где није утврђена резистентност на DMI фунгициде и арил-фенил кетоне, у програмима се могу користити дифеноконазол, метрафенон и пириофенон. Додатно, на локалитетима где дифеноконазол испољава нешто нижу ефикасност, алтернатива може бити примена мефентрифлуконазола, обзиром да није утврђена појава укрштене резистентности између ова два фунгицида. Дакле, током фенофаза почетак цветања, крај цветања/почетак прецветавања и бобице величине зрна пиринча, неопходо је применити системичне фунгициде, попут флуксапироксада, флуопирама, спироксамина или дифеноконазола/мефентрифлуконазола, како би се обезбедила сигурна заштита листова и бобица. Након фенофазе бобице величине зрна грашка, када се стиче и онтогенетска отпорност бобице према инфекцији, може се наставити са применом сумпора до фенофазе шарка, чија примена осим што обезбеђује добру заштиту бобица, пружа и дуготрајну заштиту листова.

У будућим истраживањима, у домену крерирања одрживих модела заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, треба се фокусирати на третирања након бербе и непосредно пре кретања вегетације (у самом бубрењу пупољака), чиме би се потенцијално редуковао инокулум патогена и омогућило одлагање почетка заштите током вегетације.

Постоје истраживања која су спроведена у овој области (**Caffi et al., 2013; Redl et al., 2021**), али није до краја разјашњено до које фазе би могла да се одложи примена фунгицида, односно када треба започети са заштитом уколико санитарне мере имају ефекта. Такође, потребно је установити и каква је спрега санитарних мера и резистентних популација *E. necator* на одређене групе фунгицида (попут DMI фунгицида), обзиром да се применом санитарних мера утиче на мање образовање казмотеција и аскоспора у њима, које су носиоци резистентних алела, што би могло да се искористи за редукцију и спречавање ширења резистентних јединки у оквиру једне популације.

7. ЗАКЉУЧАК

На основу добијених резултата у склопу ове докторске дисертације, могу се извести следећи закључци:

- Испитивања ефикасности фунгицида у пољу, која су изведена у периоду од 2019. до 2023. године на четири локалитета (једном експерименталном и три комерцијална винограда), обухватила су најважније групе фунгицида које се користе у сузбијању *E. necator* у нашој земљи. Услови за развој патогена били су погодни, што је резултирало значајном појавом симптома обољења у контролним варијантама, па је у појединим годинама интензитет обољења на гроздовима износио и до 90%, а на листовима и до 60%.
- Највећа ефикасност у сузбијању *E. necator* забележена је применом флуксапироксада и флуопирама. Флуксапироксад је испољио максималну ефикасност (100%) у већини огледа, док је висока ефикасност флуопирама утврђена, како у самосталној примени, тако и у комбинацији са спироксамином. Ефикасност боскалида у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе била је висока на локалитетима Нештин и Сланкаменачки Виногради (> 90%), док је на локалитетима Топола и Радмиловац забележена ниска ефикасност овог фунгицида. Добијени резултати указују да је највероватније дошло до промене осетљивости популација *E. necator* на боскалид на локалитетима Топола и Радмиловац, тј. да је резистентност вероватно индукована мутацијом H242R, која је одговорна за развој резистентности популација овог патогена на боскалид и изопиразам, док укрштене резистентности са другим представницима SDHI фунгицида нема.
- На свим испитиваним локалитетима утврђена је ниска ефикасност QoI фунгицида (крзоксим-метила, трифлуксистробина и пиракlostробина). Крзоксим-метил је испољио ниску ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, која се кретала од 14,3 до 58,9% на гроздовима, и од 31,9 до 63,4% на листовима. Ефикасност трифлуксистробина била је изузетно ниска, у појединим годинама и негативна, како на гроздовима (-15,6%), тако и на листовима (-14,7%). Ефикасност пиракlostробина у сузбијању проузроковача пепелнице кретала се од 27,3 до 68,4% на гроздовима и од 44,8 до 59,0% на листовима, чиме је потврђена ниска ефикасност свих тестираних QoI фунгицида и примећена појава укрштене резистентности.
- Резистентност популација *E. necator* на QoI фунгициде потврђена је на молекуларном нивоу детекцијом G143A мутације у *cyt b* гену. Ова мутација детектована је код свих изолата пореклом из експерименталног винограда и код више од 80% изолата који воде порекло из комерцијалних винограда, са фреквенцијом G143A алела за резистентност већом од 95%. Од укупно 110 тестираних изолата, више од 60% 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. Од укупно 92 тестирана изолата, више од 75% је означено као резистентно, а сви изолати са више од 95% G143A алела за резистентност у митохондријалног DNK, били су резистентни на крзоксим-метил и трифлуксистробин у биотестовима. Добијени резултати недвосмислено указују на широку дистрибуцију резистентних популација *E. necator* на QoI фунгициде у Србији и појаву укрштене резистентност између свих QoI 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, и углавном је била преко 90%. Нешто слабија ефикасност проквиназида утврђена 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, са процентима инхибиције који нису прелазили 50% при препорученој концентрацији овог фунгицида. За разлику од квиноксифена, проквиназид је испољио значајно већу инхибицију пораста свих испитиваних изолата. Изолати пореклом са локалитета Радмиловац и Топола, развијали су се при све три концентрације, са процентима инхибиције од 59 до 97%, док су се изолати пореклом из Нештина и Вршца развијали само при препорученој концентрацији. Висока ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице, као и значајно већа инхибиција коју је проквиназид испољио у односу на квиноксифен у биотестовима са лисним дисковима, упућују на закључак да између ова два фунгицида није присутна укрштена резистентност. Овај податак је од изузетног практичног значаја, јер указује на то да се проквиназид може користити као поуздана алтернатива квиноксифену на локалитетима где је утврђена резистентност популација *E. necator* 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. Ефикасност метрафенона и пириофенона у сузбијању *E. necator* на гроздовима, на локалитетима Радмиловац и Топола, кретала се од 8,5 до 44,7%, односно од 7,5 до 49,7%. Применом пириофенона, на локалитету Топола, забележена је и негативна ефикасност у сузбијању овог патогена на листовима (-1,0%). Супротно, на локалитетима Нештин и Сланкаменачки Виногради, утврђена је висока ефикасност (> 90%) ова два фунгицида у сузбијању *E. necator*. 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. Резистентност је детектована код изолата који воде порекло са четири различита локалитета. Добијени резултати, са практичне тачке гледишта, указују да на локалитетима где је забележена смањена ефикасност фунгицида из групе арил-фенил кетона, односно где је потврђена промена осетљивости популација *E. necator*, ове фунгициде не би требало користити 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 од препоручене. На локалитетима Радмиловац и Сланкаменачки Виногради постигнута је висока ефикасност дифенконазола у препорученој концентрацији, док је на локалитетима Топола и Нештин забележена ниска ефикасност овог фунгицида при препорученој концентрацији и висока ефикасност при двоструко већој концентрацији. На локалитетима Топола и Сланкаменачки Виногради,

тебуконазол, примењен у препорученој концентрацији, испољио је релативно ниску ефикасност, док је при 50% већој концентрацији од препоручене постигнута боља ефикасност, а највећа ефикасност овог фунгицида забележена је применом двоструко веће концентрације од препоручене. Ниска ефикасност пенконазола у сузбијању *E. necator* у препорученој концентрацији утврђена је на локалитетима Топола и Нештин.

- На локалитетима где је установљена ниска ефикасност триазола у препорученим концентрацијама примене, утврђена је и укрштена резистентност између миклобутанила, дифеноконазола и тебуконазола. Супротно, 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. Појава укрштене резистентности између свих триазола забележена је код изолата пореклом из Јагодине, Вршца и Крњева, док код осталих изолата није утврђена укрштена резистентност између миклобутанила и дифеноконазола. Молекуларна детекција мутације Y136F утврђена је код изолата *E. necator* широм Србије, али присуство 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 DM1 фунгициде и да механизам резистентности, заправо, одређује развој укрштене резистентности. Подаци о развоју укрштене резистентности у оквиру популација врло су драгоцени јер могу да укажу који фунгициди би могли да се примењују, а које не би требало примењивати у програмима заштите винове лозе.
- Ефикасност спироксамина и комбинације спироксамин+флуопирам у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе била је висока у свим годинама испитивања. Спироксамин примењен самостално испољио је ефикасност која је у већини огледа била изнад 85%, док је у комбинацији са флуопирамом ефикасност у сузбијању *E. necator* углавном била изнад 95%, како на гроздовима, тако и на листовима.
- Цифлуфенамид, примењен самостално, испољио је високу ефикасност у сузбијању проузроковача пепелнице винове лозе, која је била изнад 85% на гроздовима и изнад 83% на листовима. У комбинацији са дифеноконазолом, постигнута је висока ефикасност у сузбијању *E. necator*, која је и на гроздовима и на листовима била изнад 90%.
- У зависности од сезоне у којој су извођени огледи, ефикасност сумпора варирала је од ниске до високе. Генерално, висока ефикасност сумпора у сузбијању проузроковача пепелнице на листовима је забележена готово у свим годинама испитивања (осим 2020. године) и била је већа од 80%. У сузбијању патогена на гроздовима, у оптималним условима за његово деловање, ефикасност се кретала између 50 и 80%. Изузетно ниска ефикасност сумпора на гроздовима и листовима која је забележена 2020. године, последица је метеоролошких услова који нису били оптимални за његово деловање у периоду примарних инфекција, што се и одразило на његову ефикасност које је на гроздовима била негативна (и до -45% на локалитету Сланкаменачки Виногради).

Најбоља ефикасност постигнута је 2023. године, када је испитивана течна формулација сумпора, и тада је ефикасност била > 90% на листовима, односно > 88% на гроздовима.

- 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. У појединим огледима, висока ефикасност у заштити постигнута је и применом модела 2 (> 80%), али је исто тако у појединим огледима ефикасност била и релативно ниска (< 70%). Применом модела 3, ефикасност се кретала од 80 до 100% на гроздовима, и од 74 до 97% на листовима. Слична ефикасност у постигнута је применом модела 4 (81-100%), док је на листовима забележена нешто већа ефикасност у односу на модел 3 (од 81 до 99%). У већини огледа, применом модела 5, постигнута је најбоља ефикасност у сузбијању *E. necator*, и она се кретала од 87 до 99% на гроздовима и од 86 до 98% на листовима. У просеку, цена свих трошкова заштите (цена препарата, цена горива и дневница радника) код испитиваних модела била је: модел 3 – 207 евра (24333 динара) по хектару; модел 4 – 235 евра (27587 динара) по хектару; модел 5 – 255 евра (29919 динара) по хектару. У односу на стандардни програм заштите где су просечни трошкови заштите били 305 евра (35848 динара) по хектару, модел 3 био је економичнији у просеку за 98 евра (11515 динара), модел 4 у просеку за 70 евра (8261 динар), а модел 5 за 50 евра (5929 динара), чиме се несумњиво обезбеђује значајна уштеда новца по јединици површине.
- Применом класичних и молекуларних метода недвосмислено су утврђене резистентне популације *E. necator* на QoI и DMI фунгициде широм Србије, и то превасходно у комерцијалним виноградима из најзначајнијих виноградарских рејона наше земље. Применом класичних метода, код одређених популација, утврђена је резистентност на фунгициде из групе арил-фенил кетона, а такође су утврђене и резистентне популације на квиноксифен, док није утврђено постојање укрштене резистентности између овог фунгицида и проквиназида.
- 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.

8. ЛІТЕРАТУРА

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, 265-267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Ackrell, B. A. (2000). Progress in understanding structure–function relationships in respiratory chain complex II. *FEBS letters*, 466(1), 1-5.
- Aloi, C., Faccini, F., Marsilli, E., Savino, F., Sicbaldi, F., and Mallegni, C. (1998). Quinoxifen: experiences of control of grape powdery mildew in Italy. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 541-544.
- Amarjit, S., Chander, M., Harminder, S., Amrate, P. K., and Pardeep, K. (2012). Promising activity of fluopyram 200+ tebuconazole 200-400 SC against anthracnose and powdery mildew of grapevine. *Plant Disease Research (Ludhiana)*, 27(2), 229-231.
- Avenot, H., Sellam, A., and Michailides, T. (2009). Characterization of mutations in the membrane-anchored subunits AaSDHC and AaSDHD of succinate dehydrogenase from *Alternaria alternata* isolates conferring field resistance to the fungicide boscalid. *Plant pathology*, 58(6), 1134-1143.
- Avenot, H. F., and Michailides, T. J. (2010). Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. *Crop Protection*, 29(7), 643-651.
- Austin, C. N., and Wilcox, W. F. (2012). Effects of sunlight exposure on grapevine powdery mildew development. *Phytopathology*, 102(9), 857-866.
- Atak, A., Akkurt, M., Polat, Z., Celik, H., Kahraman, K., Akgul, D. S., Ozer, N., Soylemezoglu, G., Sire G., G, and Eibach, R. (2017). Susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) and powdery mildew (*Erysiphe necator*) of different *Vitis cultivars* and genotypes. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 32(1).
- Bacci, L., Carone, A., Dalla Valle, N., Gallizia, B., and Guiducci, M. (1998). Quinoxifen, a novel fungicide for the control of powdery mildews in grapes and vegetables. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 447-452.
- Bacci, L. (2006). Application strategy based on myclobutanil for the control of powdery mildew in grapevine. *Giornate Fitopatologiche 2006, Riccione (RN), 27-29 marzo 2006. Atti, volume secondo*, 71-74.
- Bacci, L., Bosco, V., Alfarano, L., and Bradascio, R. (2008). Meptyldinocap: a new powdery mildew fungicide for applications on grapevine, strawberry and cucurbits. *Giornate Fitopatologiche 2008, Cervia (RA), 12-14 marzo 2008, Volume 2*, 141-148.
- Balba, H. (2007). Review of strobilurin fungicide chemicals. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 42(4), 441-451.
- Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M., and Parr-Dobrzanski, B. (2002). The strobilurin fungicides. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 58(7), 649-662.
- BASF (2023). <https://agriculture.basf.us/crop-protection/products/fungicides/cevy-fungicide.html>
- Baudoin, A., Olaya, G., Delmotte, F., Colcol, J. F., and Sierotzki, H. (2008). QoI resistance of *Plasmopara viticola* and *Erysiphe necator* in the mid-Atlantic United States. *Plant Health Progress*, 9(1), 25.
- Baudoin, A., Wilcox, W. F., and Gubler, W. D. (2019). Fungicide resistance in Fungicide North American Grape Production. In *Fungicide Resistance in North America*. eds. K. Stevenson,

- M. T. McGrath, C. A. Wyenandt. St. Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society, p. 197-208.
- Bendek, C. E., Campbell, P. A., Torres, R., Donoso, A., and Latorre, B. A. (2007). The risk assessment index in grape powdery mildew control decisions and the effect of temperature and humidity on conidial germination of *Erysiphe necator*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 5(4), 522–532.
- Beresford, R. M., Wright, P. J., Wood, P. N., and Agnew, R. H. (2016). Sensitivity of grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*) to demethylation inhibitor and quinone outside inhibitor fungicides in New Zealand. *New Zealand Plant Protection*, 69, 1-10.
- Bergamaschi, A., Frontali, A., Vandini, G., and Ancarani, D. (2010). Efficacy of a new liquid sulphur based formulate against grapevine powdery mildew. *Giornate Fitopatologiche 2010, Cervia (RA), Italia, 9-12 marzo 2010. Atti, volume secondo*, 317-324.
- Bertocchi, D., Pizzatti, C., and Cortesi, P. (2008). Efficacy of meptyldinocap for the grape powdery mildew management. *Giornate Fitopatologiche 2008, Cervia (RA), 12-14 marzo 2008, Volume 2*, 323-328.
- Bisiach, M., Zerbetto, F. and Cortesi, P. (1996). Fungicidal activity of azoxystrobin (ICIA 5504) and kresoxym-methyl (BAS 490 F) against grape powdery mildew. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 2, 335-342.
- Blaich, R., Heintz, C., and Wind, R. (1989). Studies on conidial germination and initial growth of the grapevine powdery mildew *Uncinula necator* on artificial substrates. *Applied microbiology and biotechnology*, 30(4), 415-421.
- Braccini, P., Nardi, G., Martellucci, R., and Bonanzinga, M. (2010). Powdery mildew control in organic vine growing. *Giornate Fitopatologiche 2010, Cervia (RA), Italia, 9-12 marzo 2010. Atti, volume secondo*, 331-338.
- Braun, U. (2011). The current systematics and taxonomy of the powdery mildews (Erysiphales): an overview. *Mycoscience*, 52(3), 210-212.
- Brunelli, A., Emiliani, G., Cont, C. and Viccinelli, R. (1992). Effectiveness of sterol biosynthesis inhibiting fungicides against grape powdery midlew. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 2, 183-192.
- Brunelli, A., Minuto, G., Moncheiro, M. and Gullino, MI. (1998): Efficacy of strobilyrine derivatives against grape powdery mildew in northern Italy. Proc. of the BCP Conference – Pest and Diseases, Brighton, UK, 137-142.
- Brewer, M. T., Cadle-Davidson, L., Cortesi, P., Spanu, P. D., and Milgroom, M. G. (2011). Identification and structure of the mating-type locus and development of PCR-based markers for mating type in powdery mildew fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 48(7), 704-713.
- Burden, R. S., Cooke, D. T., and Carter, G. A. (1989). Inhibitors of sterol biosynthesis and growth in plants and fungi. *Phytochemistry*, 28(7), 1791-1804.
- Caffi, T., Rossi, V., Legler, S. E., and Bugiani, R. (2011). A mechanistic model simulating ascospore infections by *Erysiphe necator*, the powdery mildew fungus of grapevine. *Plant Pathology*, 60(3), 522-531.
- Caffi, T., Legler, S. E., Rossi, V., and Bugiani, R. (2012). Evaluation of a warning system for early-season control of grapevine powdery mildew. *Plant Disease*, 96(1), 104-110.
- Caffi, T., Legler, S. E., Bugiani, R., and Rossi, V. (2013). Combining sanitation and disease modelling for control of grapevine powdery mildew. *European Journal of Plant Pathology*, 135, 817-829.

- Calonnec, A., Cartolaro, P., Poupot, C., Dubourdieu, D., and Darriet, P. (2004). Effects of *Uncinula necator* on the yield and quality of grapes (*Vitis vinifera*) and wine. *Plant pathology*, 53(4), 434-445.
- Capella, A., Guarnone, A., Basilico, M., and Freschi, G. (2006). Quinoxifen+ sulphur, a novel formulation against powdery mildew in grapes, orchards and vegetables. *Giornate Fitopatologiche 2006, Riccione (RN), 27-29 marzo 2006. Atti, volume secondo*, 65-70.
- Capriotti, M., Vecchio, A. D., Fagnani, A., Gentili, E., Bellettini, L., Balzaretto, G., Coatti, M. and Manaresi, M. (2004). BAS 510 F (Boscalid): new multipurpose fungicide [fruit, vegetable and ornamental crops]. *Atti delle Giornate Fitopatologiche*, 2, 55-60.
- Capriotti, M., Gentili, E., Fagnani, A., Vecchio, A. D., Romagnoli, C., and Marchi, A. (2006). Collis: fungicide containing kresoxim-methyl and boscalid for grape and cucurbits powdery mildew control. *Giornate Fitopatologiche 2006, Riccione (RN), 27-29 marzo 2006. Atti*, 2, 41-46.
- Capriotti, M., Gentili, E., Vecchio, A. D., Balzaretto, G., and Fagnani, A. (2006). Metrafenone (Vivando): new fungicide for grape powdery mildew control. *Giornate Fitopatologiche 2006, Riccione (RN), 27-29 marzo 2006. Atti, volume secondo*, 3-8.
- Carisse, O., Bacon, R., and Lefebvre, A. (2009a). Grape powdery mildew (*Erysiphe necator*) risk assessment based on airborne conidium concentration. *Crop Protection*, 28(12), 1036-1044.
- Carisse, O., Bacon, R., Lefebvre, A., and Lessard, K. (2009b). A degree-day model to initiate fungicide spray programs for management of grape powdery mildew [*Erysiphe necator*]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 31(2), 186-194.
- Carroll, J. E., and Wilcox, W. F. (2003). Effects of humidity on the development of grapevine powdery mildew. *Phytopathology*, 93(9), 1137-1144.
- Cavazza, F., Preti, M., Franceschelli, F., Landi, M., Montanari, M., Antoniacchi, L., and Bugiani, R. (2018). Efficacy evaluation of different triazole fungicides for the control of *Erysiphe necator* on grapevine in Emilia-Romagna. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (SI), Italia, 6-9 marzo 2018, Volume secondo*, 559-566.
- Cherrad, S., Charnay, A., Hernandez, C., Steva, H., Belbahri, L., and Vacher, S. (2018). Emergence of boscalid-resistant strains of *Erysiphe necator* in French vineyards. *Microbiological research*, 216, 79-84.
- Chung, H. S., Kabir, M. H., Abd El-Aty, A. M., Lee, H. S., Rahman, M. M., Chang, B. J., Shin, H.C., and Shim, J. H. (2017). Dissipation kinetics and pre-harvest residue limit of pyriofenone in oriental melon (*Cucumis melo* Var. *makuwa*) grown under regulated climatic conditions. *Biomedical Chromatography*, 31(10), e3965.
- Colcol, J.F. (2008). *Fungicide sensitivity of Erysiphe necator and Plasmopara viticola from Virginia and nearby states*. Master thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Colcol, J. F., Rallos, L. E., and Baudoin, A. B. (2012). Sensitivity of *Erysiphe necator* to demethylation inhibitor fungicides in Virginia. *Plant disease*, 96(1), 111-116.
- Colcol, J. F., and Baudoin, A. B. (2016). Sensitivity of *Erysiphe necator* and *Plasmopara viticola* in Virginia to QoI fungicides, boscalid, quinoxifen, thiophanate methyl, and mefenoxam. *Plant Disease*, 100(2), 337-344.
- Cortesi, P., Bisiach, M., Ricciolini, M., and Gadoury, D. M. (1997). Cleistothecia of *Uncinula necator*—an additional source of inoculum in Italian vineyards. *Plant disease*, 81(8), 922-926.

- Cortesi, P., Gadoury, D. M., Seem, R. C., and Pearson, R. C. (1995). Distribution and retention of cleistothecia of *Uncinula necator* on bark of grapevines. *Plant disease*, 79(1), 15-19.
- Cortesi, P., Mazzoleni, A., Pizzatti, C., and Milgroom, M. G. (2005). Genetic similarity of flag shoot and ascospore subpopulations of *Erysiphe necator* in Italy. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), 7788-7791.
- Cortesi, P., Pizzatti, C., Bertocchi, D., and Milgroom, M. G. (2008). Persistence and Spatial Autocorrelation of Clones of *Erysiphe necator* Overwintering as Mycelium in Dormant Buds in an Isolated Vineyard in Northern Italy. *Phytopathology*, 98(2), 148–152.
- Cortesi, P., Querzola, P., Capella, A., Rubboli, V., Serrati, A., and Myrta, A. (2012). Cyflufenamid: a new fungicide against grape, apple, cucurbits and Solanaceae powdery mildews. *Giornate Fitopatologiche 2012, Milano Marittima (RA), 13-16 marzo 2012*, 195-200.
- Darriet, P., Pons, M., Henry, R., Dumont, O., Findeling, V., Cartolaro, P., Calonnet, A. and Dubourdieu, D. (2002). Impact odorants contributing to the fungus type aroma from grape berries contaminated by powdery mildew (*Uncinula necator*); incidence of enzymatic activities of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11), 3277-3282.
- D'Arcangelo, M. E. M., Papi, D., Santinelli, C., Natalini, G., and Emanuelli, A. (2010). Evaluation of the efficacy of new formulates against powdery mildew of grapevine in Umbria region. *Giornate Fitopatologiche 2010, Cervia (RA), Italia, 9-12 marzo 2010. Atti, volume secondo*, 325-330.
- D'Arcangelo, M. E. M., and Puccioni, S. (2018). Control of grape powdery mildew with recent products allowed in organic agriculture. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (SI), Italia, 6-9 marzo 2018, Volume secondo*, 543-550.
- D'Ascenzo, D., Rubboli, V., Prencipe, N., and Crivelli, L. (2012). Effectiveness of cyflufenamid against grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*) in Abruzzo region. *Giornate Fitopatologiche 2012, Milano Marittima (RA), 13-16 marzo 2012*, 339-346.
- Deandrea, M., Morando, A. and Amico, L. (2020). Two year efficacy evaluation of several products in the control of grapevine powdery mildew. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 2, 373-378.
- Deliere, L., Miclot, A. S., Sauris, P., Rey, P., and Calonnet, A. (2010). Efficacy of fungicides with various modes of action in controlling the early stages of an *Erysiphe necator*-induced epidemic. *Pest management science*, 66(12), 1367-1373.
- Delmas, D., Jannin, B., and Latruffe, N. (2005). Resveratrol: preventing properties against vascular alterations and ageing. *Molecular nutrition and food research*, 49(5), 377-395.
- Delye, C., Laigret, F., and Corio-Costet, M. F. (1997). A mutation in the 14 alpha-demethylase gene of *Uncinula necator* that correlates with resistance to a sterol biosynthesis inhibitor. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(8), 2966-2970.
- Délye, C., Bousset, L., and Corio-Costet, M. F. (1998). PCR cloning and detection of point mutations in the eburicol 14a-demethylase (CYP51) gene from *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*, a “recalcitrant” fungus. *Current genetics*, 34(5), 399-403.
- Dongiovanni, C., Giampaolo, C., Carolo, M. D., Santomauro, A., and Faretra, F. (2010). Strategies for the control of powdery mildew on table-grape in Apulia. *Giornate Fitopatologiche 2010, Cervia (RA), Italia, 9-12 marzo 2010. Atti, volume secondo*, 339-344.

- Dongiovanni, C., Carolo, M. D., Fumarola, G., and Faretra, F. (2016). Efficacy evaluation of different protection schedules against powdery mildew on table-grape. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano terme (Siena), 8-11 marzo 2016, Volume secondo*, 477-488.
- Dongiovanni, C., Carolo, M. D., Fumarola, G., & Faretra, F. (2018). Efficacy evaluation of the new fungicide fluxapyroxad and a new WG formulation of penconazole against powdery mildew on table-grape. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (SI), Italia, 6-9 marzo 2018, Volume secondo*, 121-129.
- Dufour, M. C., Fontaine, S., Montarry, J., & Corio-Costet, M. F. (2011). Assessment of fungicide resistance and pathogen diversity in *Erysiphe necator* using quantitative real-time PCR assays. *Pest Management Science*, 67(1), 60-69.
- Egger, E. (2008). Control trials against grapevine powdery mildew with new fungicides in Tuscany. *Giornate Fitopatologiche 2008, Cervia (RA), 12-14 marzo 2008, Volume 2*, 345-352.
- Emmett, R. W., Magarey, R. D., Magarey, P. A., Biggins, L. T., and Clarke, K. (1997). Strategic management of grapevine powdery mildew (*Uncinula necator*) in south eastern Australia. *Wein-Wissenschaft*, 52(3-4), 203-205.
- Emmett, B, Wicks, T., Hitch, C., Rozario S, Hawtin, J., Deland, L. and Jaeger, C. (2003). Effects of spray programs containing fungicides with different chemistry on the development of powdery mildew on grapevines. In Strategic use of sulphur in integrated pest and disease management (IPM) programs for grapevines. *Final Report to GWRDC, Project NumberL DAV, 98(1)*, 21-52.
- Emmett, B., Wicks, T. and Magarey, P. (2003). Sulphur formulations, particle size and activity– a review. In Strategic use of sulphur in integrated pest and disease management (IPM) programs for grapevines. *Final Report to GWRDC, Project NumberL DAV, 98(1)*, 52-58.
- EPPO, 2002: Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products: *Uncinula necator* – PP 1/4(4), EPPO Bulletin 32, 315–318.
- Epstein, L., and Bassein, S. (2003). Patterns of pesticide use in California and the implications for strategies for reduction of pesticides. *Annual Review of Phytopathology*, 41(1), 351-375.
- Erickson, E. O., and Wilcox, W. F. (1997). Distributions of sensitivities to three sterol demethylation inhibitor fungicides among populations of *Uncinula necator* sensitive and resistant to triadimefon. *Phytopathology*, 87(8), 784-791.
- Essling, M., McKay, S., and Petrie, P. R. (2021). Fungicide programs used to manage powdery mildew (*Erysiphe necator*) in Australian vineyards. *Crop Protection*, 139, 105369.
- European Commission (EC) (1998a). Review report for the active substance kresoxim-methyl. 7583/VI/97-Final. 16.10.1998
- European Commission (EC) (1998b). Review report for the active substance azoxystrobin. 7581/VI/97-Final. 22 April 1998
- European Commission (EC) (2003). Review report for the active substance trifloxystrobin. SANCO/4339/2000-Final. 7 April 2003
- European Commission (EC) (2004). Review report for the active substance pyraclostrobin. SANCO/1420/2001-Final. 8. September 2004
- European Commission (EC) (2006). Review report for the active substance metrafenone. SANCO/10280/06 - rev. Final. 14 July 2006
- European Commission (EC) (2018). Final Renewal report for the active substance quinoxifen finalised in the Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed at its meeting on 24 October 2018 in view of the non-renewal of the approval of quinoxifen as active

- substance in accordance with Regulation (EC) No 1107/20091. SANTE/10214/2018 rev 1. 24 October 2018
- European Commission (EC) (2021). Review report for the active substance pyriofenone. Finalised in the Standing Committee on the Food Chain and Animal Health at its meeting on 16 July 2013 in view of the approval of pyriofenone as active substance in accordance with Regulation (EC) No 1107/20092. SANCO/10851/2013 rev. 3. 16 July 2013. 21 October 2021.
- European Commission (EC) (2023). EU Pesticide database. https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/eu-pesticides-database_en Преузето 10.11.2023.
- Falk, S. P., Gadoury, D. M., Cortesi, P., Pearson, R. C., and Seem, R. C. (1995). Parasitism of *Uncinula necator* cleistothecia by the mycoparasite *Ampelomyces quisqualis*. *Phytopathology*, 85(7), 794-800.
- FAO (2023). FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> Преузето 15.01.2023. године.
- Feng, X., Nita, M., and Baudoin, A. B. (2018). Evaluation of quinoxyfen resistance of *Erysiphe necator* (grape powdery mildew) in a single Virginia vineyard. *Plant disease*, 102(12), 2586-2591.
- Felsenstein, F., Semar, M., and Stammler, G. (2010). Sensitivity of wheat powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) towards Metrafenone. *Gesunde Pflanzen*, 62(1), 29-33.
- Fernández-González, M., Rodríguez-Rajo, F. J., Escuredo, O., and Aira, M. J. (2013). Optimization of integrated pest management for powdery mildew (*Uninula necator*) control in a vineyard based on a combination of phenological, meteorological and aerobiological data. *The Journal of Agricultural Science*, 151(5), 648-658.
- Ficke, A., Gadoury, D. M., Seem, R. C., and Dry, I. B. (2003). Effects of ontogenic resistance upon establishment and growth of *Uncinula necator* on grape berries. *Phytopathology*, 93(5), 556-563.
- Ficke, A., Gadoury, D. M., Seem, R. C., Godfrey, D., and Dry, I. B. (2004). Host barriers and responses to *Uncinula necator* in developing grape berries. *Phytopathology*, 94(5), 438-445.
- Finney, M.A. (1964): Probit analysis – A statistical treatment of the sigmoid response curve. University Press, 2nd edition, Cambridge, UK.
- FRAC (2014a). Minutes of the meeting, QoI working group of FRAC. December 4th, 2014, Frankfurt, Germany.
- FRAC (2014b). Protocol of the discussions and recommendations of the AZN Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Azanaphthalene (AZN) Working Group. Annual Meeting March 10th, 2014, Teleconference.
- FRAC (2015a). Minutes of the meeting, QoI working group of FRAC. All crops: December 3th, 2015, Frankfurt, Germany.
- FRAC (2015b). Protocol of the discussions and recommendations of the AZN Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Azanaphthalene (AZN) Working Group. Annual Meeting February 20th, 2015. Teleconference.
- FRAC (2015c). Protocol of the discussions and use recommendations of the SDHI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Succinate Dehydrogenase Inhibitor (SDHI) Working Group. Meeting on December 2, 2015, Frankfurt, Germany.

- FRAC (2016). Protocol of the discussions and recommendations of the AZN Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Azanaphthalene (AZN) Working Group. Annual Meeting February 22nd, 2016. Teleconference.
- FRAC (2016b). Protocol of the discussions and use recommendations of the SDHI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Succinate Dehydrogenase Inhibitor (SDHI) Working Group. Meeting on December 14, 2016, Frankfurt, Germany.
- FRAC (2017a). Minutes of the meeting, QoI working group of FRAC. December 14th, 2017, updated in March 2018. Frankfurt, Germany.
- FRAC (2017b). Protocol of the discussions and recommendations of the AZN Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Azanaphthalene (AZN) Working Group. Annual Meeting March 23rd, 2017. Teleconference.
- FRAC (2017c). Protocol of the discussions and use recommendations of the SDHI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Succinate Dehydrogenase Inhibitor (SDHI) Working Group. Meeting on December 13, 2017, Frankfurt, Germany.
- FRAC (2018a). Protocol of the discussions and recommendations of the AZN Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Azanaphthalene (AZN) Working Group. Annual Meeting April 5th 2018, Teleconference.
- FRAC (2018b). Minutes of the meeting, QoI working group of FRAC. All crops: December 13th, 2018, Frankfurt, Germany.
- FRAC (2018c). Protocol of the discussions and use recommendations of the SDHI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Succinate Dehydrogenase Inhibitor (SDHI) Working Group. Meeting on December 11-12, 2018, Frankfurt, Germany.
- FRAC (2020a). Minutes of the meeting, QoI working group of FRAC. All crops: January 23rd, 2020, Frankfurt, Germany.
- FRAC (2020b). Protocol of the discussions and use recommendations of the SDHI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Succinate Dehydrogenase Inhibitor (SDHI) Working Group. Meeting on January 21, 2020, Frankfurt, Germany.
- FRAC (2021a). Minutes of the meeting, QoI working group of FRAC. All crops: January 25th and 26th, 2021, held virtually.
- FRAC (2021b). Protocol of the discussions and use recommendations of the SDHI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Succinate Dehydrogenase Inhibitor (SDHI) Working Group. Virtual Meeting on January 20-21, 2021.
- FRAC (2022a). Protocol of the discussions and use recommendations of the QoI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Quinone ‘outside’ inhibitor (QoI) Working Group. Meeting on 21st September, 2022.
- FRAC (2022b). Protocol of the discussions and use recommendations of the SDHI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Succinate Dehydrogenase Inhibitor (SDHI) Working Group. Virtual Meetings on January 18-19, April 5-6 and September 20, 2022.
- FRAC (2023a). <https://www.frac.info/home> (приступљено 15.01.2023. године)
- FRAC (2023b). Minutes of the meeting, QoI working group of FRAC. January 19th, held virtually.
- FRAC (2023c). Protocol of the discussions and use recommendations of the SDHI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Succinate Dehydrogenase Inhibitor (SDHI) Working Group. Virtual Meetings on January 17-18 and April 20, 2023.

- FRAC (2023d). Protocol of the discussions and recommendations of the SBI Working Group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Sterol Biosynthesis Inhibitor (SBI) Working Group. Meeting on January 20th, 2023 and update on April 20th, 2023, Frankfurt, Germany and online.
- Frenkel, O., Brewer, M. T., and Milgroom, M. G. (2010). Variation in Pathogenicity and Aggressiveness of *Erysiphe necator* from Different *Vitis* spp. and Geographic Origins in the Eastern United States . *Phytopathology*, 100(11), 1185–1193.
- Frenkel, O., Cadle-Davidson, L., Wilcox, W. F., and Milgroom, M. G. (2015). Mechanisms of resistance to an azole fungicide in the grapevine powdery mildew fungus, *Erysiphe necator*. *Phytopathology*, 105(3), 370-377.
- Gadoury, D. M., and Pearson, R. C. (1988). Initiation, development, dispersal and survival of cleistothecia of *Uncinula necator* in New York vineyards. *Phytopathology*, 78(11), 1413-1421.
- Gadoury, D. M., and Pearson, R. C. (1990). Ascocarp dehiscence and ascospore discharge in *Uncinula necator*. *Phytopathology*, 80(4), 393-401.
- Gadoury, D. M., and Pearson, R. C. (1991). Heterothallism and pathogenic specialization in *Uncinula necator*. *Phytopathology*, 81(10), 1287-1293.
- Gadoury, D. M., Pearson, R. C., Riegel, D. G., Seem, R. C., Becker, C. M., and Pscheidt, J. W. (1994). Reduction of powdery mildew and other diseases by over-the-trellis applications of lime sulfur to dormant grapevines. *Plant Disease*, 78(1), 83-87.
- Gadoury, D. M., Seem, R. C., Magarey, P. A., Emmett, R., and Magarey, R. (1997). Effects of environment and fungicides on epidemics of grape powdery mildew: considerations for practical model development and disease management. *Vitic. Enol. Sci.* 52, 225–229.
- Gadoury, D. M., Cadle-Davidson, L., Wilcox, W. F., Dry, I. B., Seem, R. C., and Milgroom, M. G. (2012). Grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*): A fascinating system for the study of the biology, ecology and epidemiology of an obligate biotroph. *Molecular Plant Pathology*, 13(1), 1–16.
- Gadoury, D. M., Seem, R. C., Ficke, A., and Wilcox, W. F. (2001). The epidemiology of powdery mildew on Concord grapes. *Phytopathology*, 91(10), 948-955.
- Gadoury, D. M., Seem, R. C., Ficke, A., and Wilcox, W. F. (2003). Ontogenic resistance to powdery mildew in grape berries. *Phytopathology*, 93(5), 547-555.
- Gadoury, D. M., Seem, R. C., Wilcox, W. F., Henick-Kling, T., Conterno, L., Day, A., and Ficke, A. (2007). Effects of Diffuse Colonization of Grape Berries by *Uncinula necator* on Bunch Rots, Berry Microflora, and Juice and Wine Quality . *Phytopathology*, 97(10), 1356–1365.
- Gee, L. M., Stummer, B. E., Gadoury, D. M., Biggins, L. T., and Scott, E. S. (2000). Maturation of cleistothecia of *Uncinula necator* (powdery mildew) and release of ascospores in southern Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(1), 13–20.
- Genet, J. L., Bassi, A., Pianella, F., Massasso, W., and Turchiarelli, V. (2004). Proquinazid: a novel fungicide for powdery mildew control in grapevine [*Vitis vinifera* L.]. *Atti delle Giornate Fitopatologiche (Italy)*.
- Genet, J. L., and Jaworska, G. (2009). Baseline sensitivity to proquinazid in *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* and *Erysiphe necator* and cross-resistance with other fungicides. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(8), 878-884.
- Ghule, S. B., Sawant, I. S., Sawant, S. D., Saha, S., and Devarumath, R. M. (2019). Detection of resistance to demethylation inhibitor fungicides in *Erysiphe necator* from tropical India by biological and molecular assays. *Indian Phytopathology*, 72, 53-61.

- Gilbert, S. R., Cools, H. J., Fraaije, B. A., Bailey, A. M., and Lucas, J. A. (2009). Impact of proquinazid on appressorial development of the barley powdery mildew fungus *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 94(2-3), 127-132.
- Gisi, U., Chin, K. M., Knapova, G., Färber, R. K., Mohr, U., Parisi, S., Sierotzki, H., and Steinfeld, U. (2000). Recent developments in elucidating modes of resistance to phenylamide, DMI and strobilurin fungicides. *Crop Protection*, 19(8-10), 863-872.
- Gisi, U., Sierotzki, H., Cook, A., and McCaffery, A. (2002). Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest management science*, 58(9), 859-867.
- Graf, S. B. (2017). *Characterisation of metrafenone and succinate dehydrogenase inhibitor resistant isolates of the grapevine powdery mildew Erysiphe necator*. Dissertation, Technische Universität Kaiserslautern.
- Graf S., Zito R., Gold R.E. and Stammler G. (2017). Status of *In Vivo* and Molecular Diagnosis of Fungicide Resistance in Powdery Mildews. In *Modern fungicides and antifungal compounds VIII, Proceedings of the 18th International Reinhardsbrunn Symposium, April 24-28, 2016, Friedrichroda, Germany* (pp. 243-248). Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft eV Verlag, Braunschweig, Germany.
- Green, E. A., and Duriatti, A. (2005). Sensitivity of *Uncinula necator* isolates to quinoxyfen: baseline studies, validation of baseline method, and targeted sensitivity monitoring after several years of commercial use. Pages 163-168, In: BCPC Int. Congr. Crop Sci. Technol. BCPC Publications Alton, Hampshire GU34 2QD, United Kingdom.
- Green, E. A., and Gustafson, G. D. (2006). Sensitivity of *Uncinula necator* to quinoxyfen: evaluation of isolates selected using a discriminatory dose screen. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 62(6), 492-497.
- Grove, G. G. (2004). Perennation of *Uncinula necator* in vineyards of Eastern Washington. *Plant disease*, 88(3), 242-247.
- Guario, A., Lasorella, V., Antonino, N., Grande, O., Convertini, S., and Panzarino, O. (2014). Results of a three-year period of control strategies of grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*) in Apulia. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (Siena), 18-21 marzo 2014, Volume secondo*, 305-312.
- Gubler, W. D., Ypema, H. L., Ouimette, D. G., and Bettiga, L. J. (1996). Occurrence of resistance in *Uncinula necator* to triadimefon, myclobutanil, and fenarimol in California grapevines. *Plant Disease*, 80(8), 902-909.
- Gubler, W. D., Rademacher, M. R., Vasquez, S. J., and Thomas, C. S. (1999). Control of powdery mildew using the UC Davis powdery mildew risk index. *APSnet Feature (January 1999)*.
- Hägerhäll, C. (1997). Succinate: quinone oxidoreductases: variations on a conserved theme. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1320(2), 107-141.
- Hajjeh, H., Miazzi, M., and Faretra, F. (2008). Overwintering of *Erysiphe necator* Schw. in southern Italy. *Journal of Plant Pathology*, 323-330.
- Halleen, F., Holz, G., and Pringle, K. L. (2000). Resistance in *Uncinula necator* to triazole fungicides in South African grapevines. *South african journal of Enology and Viticulture*, 21:71-80.
- Halleen, F., and Holz, G. (2001). An Overview of the Biology, Epidemiology and Control of *Uncinula necator* (Powdery Mildew) on Grapevine, with Reference to South Africa. *South african journal of Enology and Viticulture*, 22(2), 111-121.

- Haramoto, M., Yamanaka, H., Hosokawa, H., Sano, H., Sano, S., and Otani, H. (2006a). Control efficacy of cyflufenamid in the field and its fungicidal properties. *Journal of Pesticide Science*, 31(2), 116-122.
- Haramoto, M., Yamanaka, H., Sano, H., Sano, S., and Otani, H. (2006b). Fungicidal activities of cyflufenamid against various plant-pathogenic fungi. *Journal of Pesticide Science*, 31(2), 95-101.
- Heinecke, M., Rocha, L. F., Fakhoury, A. M., and Bond, J. P. (2019). Efficacy of fungicides containing mefentrifluconazole to manage Frogeye leaf spot of soybean. *Phytopathology* 109, S2.63 (Abstr.).
- Hoffmann, P., Fuezi, I., and Virányi, F. (2012). Indirect effect of fungicide treatments on chasmothecia of *Erysiphe necator* Schwein overwintering on grapevine bark. *Plant Protection Science*, 48(1), 21-30.
- Hollomon, D. W., Wheeler, I., Dixon, K., Longhurst, C., and Skylakakis, G. (1997). Defining the resistance risk of the new powdery mildew fungicide quinoxifen. *Pesticide science*, 51(3), 347-351.
- Hosokawa, H. (2006). Occurrence and biological properties of cyflufenamid-resistant *Sphaerotheca cucurbitae*. *Jpn J Phytopathol*, 72, 260-261.
- Husak, V. V., Mosiichuk, N. M., Storey, J. M., Storey, K. B., and Lushchak, V. I. (2017). Acute exposure to the penconazole-containing fungicide Topas partially augments antioxidant potential in goldfish tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 193, 1-8.
- Ishii, H., Bryson, P. K., Kayamori, M., Miyamoto, T., Yamaoka, Y., and Schnabel, G. (2021). Cross-resistance to the new fungicide mefentrifluconazole in DMI-resistant fungal pathogens. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 171, 104737.
- Jeanmart, S., Edmunds, A. J., Lamberth, C., and Pouliot, M. (2016). Synthetic approaches to the 2010–2014 new agrochemicals. *Bioorganic and medicinal chemistry*, 24(3), 317-341.
- Jailloux, F., Willocquet, L., Chapuis, L., and Froidefond, G. (1999). Effect of weather factors on the release of ascospores of *Uncinula necator*, the cause of grape powdery mildew, in the Bordeaux region. *Canadian Journal of Botany*, 77(7), 1044-1051.
- Jones, L., Riaz, S., Morales-Cruz, A., Amrine, K. C., McGuire, B., Gubler, W. D., Walker, M. A., and Cantu, D. (2014). Adaptive genomic structural variation in the grape powdery mildew pathogen, *Erysiphe necator*. *BMC genomics*, 15(1), 1-18.
- Kast, W. K. (1997). A step by step risk analysis (SRA) used for planning sprays against powdery mildew (OiDiag-System). *Journal of Viticulture and Enological Sciences* 52, 230–1.
- Kast, W. K., and Bleyer, K. (2011). Efficacy of sprays applied against powdery mildew (*Erysiphe necator*) during a critical period for infections of clusters of grapevines (*Vitis vinifera*). *Journal of Plant Pathology*, 93, S29-S32.
- Köhle H., Opalski K. and Hückelhoven R. (2004). Metrafenone - the first benzophenone-type fungicide: profile and mode of action. *Mitteilungen aus der biologischen Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft*, 396: 335-336.
- Kunova, A., Pizzatti, C., Bonaldi, M., and Cortesi, P. (2016). Metrafenone resistance in a population of *Erysiphe necator* in northern Italy. *Pest management science*, 72(2), 398-404.
- Kunova, A., Pizzatti, C., Saracchi, M., Pasquali, M., and Cortesi, P. (2021). Grapevine powdery mildew: Fungicides for its management and advances in molecular detection of markers associated with resistance. *Microorganisms*, 9(7), 1541.

- Lavezzaro, S., and Morando, A. (2014). A new mixture effective against powdery mildew on grapes. *Informatore Agrario*, 70(19), 47-49.
- Lazzari, V., Arcangeli, G., Boebel, A., Gualco, A., Lazzati, S., Piombo, R., and Cantoni, A. (2010). Fluopyram (Luna® privilege): a new active substance effective against *Botrytis cinerea* in grapes and vegetables. *Giornate Fitopatologiche 2010, Cervia (RA), Italia, 9-12 marzo 2010. Atti, volume secondo*, 111-116.
- Lee, S., Gustafson, G., Skamnioti, P., Baloch, R., and Gurr, S. (2008). Host perception and signal transduction studies in wild-type *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* and a quinoxifen-resistant mutant implicate quinoxifen in the inhibition of serine esterase activity. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 64(5), 544-555.
- Lybbert, T. J., Magnan, N., and Gubler, W. D. (2016). Multidimensional responses to disease information: How do winegrape growers react to powdery mildew forecasts and to what environmental effect?. *American Journal of Agricultural Economics*, 98(2), 383-405.
- Legler, S. E., Caffi, T., and Rossi, V. (2012). A nonlinear model for temperature-dependent development of *Erysiphe necator* chasmothecia on grapevine leaves. *Plant Pathology*, 61(1), 96-105.
- Legler, S. E., Caffi, T., and Rossi, V. (2014). A model for the development of *Erysiphe necator* chasmothecia in vineyards. *Plant Pathology*, 63(4), 911-921.
- Liguori, R., Bertona, A., Bassi, R., Fili, V., Filippi, G., Saporiti, M., and Casola, F. (2000). Trifloxystrobin (CGA 279202): new broad spectrum fungicide. *Atti, Giornate fitopatologiche, Perugia, 16-20 aprile, 2000, Volume 2*, 3-8.
- Lorenz, D. H., Eichhorn, K. W., Bleiholder, H., Klose, R., Meier, U., and Weber, E. (1995). Growth Stages of the Grapevine: Phenological growth stages of the grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*)—Codes and descriptions according to the extended BBCH scale. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1(2), 100-103.
- Ma, Z., and Michailides, T. J. (2005). Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Protection*, 24(10), 853-863.
- Magarey, P., Wicks, T., Hitch, C. and Emmett, B. (2003). Effects of temperature and application rates on the phytotoxicity of sulphur on grapevines. In Strategic use of sulphur in integrated pest and disease management (IPM) programs for grapevines. *Final Report to GWRDC, Project Number L DAV*, 98(1), 110-117.
- Magarey, P.A., and Moyer, M.M. (2010, July). Towards establishing low input regimes in Australian viticulture 3: Use of "epi-season" and "lag phase control" in applying epidemiological knowledge of grapevine powdery mildew, to reduce the number of sprays and inoculum reservoirs for long-term control. In A. Calonnec, F. Delmotte, B. Emmet, D. Gadoury, C. Gessler, D. Gubler, H.H. Kassemeier, P. Magarey, M. Raynal, and R. Seem (Eds.), *6th International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew* (pp. 114-116). Bordeaux: France.
- Manaresi, M., and Coatti, M. (2002). F500 (pyraclostrobin): a newest broad-spectrum strobilurin fungicide. *Atti, Giornate fitopatologiche, Baselga di Piné, Trento, Italy, 7-11 aprile 2002, Volume 2*, 119-124.
- McDonald, B. A., and Linde, C. (2002). Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual review of phytopathology*, 40(1), 349-379.

- McGrath, M. T., and Sexton, Z. F. (2018). Poor control of cucurbit powdery mildew associated with first detection of resistance to cyflufenamid in the causal agent, *Podosphaera xanthii*, in the United States. *Plant Health Progress*, 19(3), 222-223.
- Miazzi, M. M., Hajjeh, H. R., and Faretra, F. (2010). An in vitro method to evaluate grapevine cultivars for *Erysiphe necator* susceptibility. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 46, 363-367.
- Miazzi, M., Hajjeh, H., and Faretra, F. (2003). Observations on the population biology of the grape powdery mildew fungus *Uncinula necator*. *Journal of Plant Pathology*, 85(2), 123–129.
- Miazzi, M., and Hajjeh, H. R. (2011). Differential sensitivity to triadimenol of *Erysiphe necator* isolates belonging to different genetic groups. *Journal of Plant Pathology*, 729-735.
- Miller, T. C., and Gubler, W. D. (2004). Sensitivity of California isolates of *Uncinula necator* to trifloxystrobin and spiroxamine, and update on triadimefon sensitivity. *Plant disease*, 88(11), 1205-1212.
- Miles, L. A., Miles, T. D., Kirk, W. W., & Schilder, A. M. C. (2012). Strobilurin (QoI) resistance in populations of *Erysiphe necator* on grapes in Michigan. *Plant disease*, 96(11), 1621-1628.
- Milutinović, N., Stević, M., Špirović, T. B., and Brkić, D. (2023). Mefentrifluconazole: The novel triazole fungicide. *Biljni lekar*, 51(4), 594-612.
- Miyamoto, T., Hayashi, K., and Ogawara, T. (2020). First report of the occurrence of multiple resistance to Flutianil and Pyriofenone in field isolates of *Podosphaera xanthii*, the causal fungus of cucumber powdery mildew. *European Journal of Plant Pathology*, 156(3), 953-963.
- Montarry, J., Cartolaro, P., Richard-Cervera, S., and Delmotte, F. (2009). Spatio-temporal distribution of *Erysiphe necator* genetic groups and their relationship with disease levels in vineyards. *European journal of plant pathology*, 123(1), 61-70.
- Morando, A., Lavezzaro, S., and Ferro, S. (2014). Three years of trials against grapevine powdery mildew in Piedmont. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (Siena), 18-21 marzo 2014, Volume secondo*, 299-304.
- Morando, A., Lavezzaro, S., and Ferro, S. (2016). Control of grape powdery mildew with products acting directly or indirectly: two year trials in Piedmont. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano terme (Siena), 8-11 marzo 2016, Volume secondo*, 471-476.
- Moyer, M. M. (2011). *Understanding grapevine powdery mildew in new york state: biology, epidemiology and risk assessment*. Dissertation, Cornell University.
- Moyer, M. M., Gadoury, D. M., Wilcox, W. F., and Seem, R. C. (2014). Release of *Erysiphe necator* ascospores and impact of early season disease pressure on *Vitis vinifera* fruit infection. *American Journal of Enology and Viticulture*, 65(3), 315-324.
- Moyer, M. M., Gadoury, D. M., Wilcox, W. F., and Seem, R. C. (2016). Weather during critical epidemiological periods and subsequent severity of powdery mildew on grape berries. *Plant disease*, 100(1), 116-124.
- Ogawa, M., Nieto, J., and Ruggiero, P. (2012). Pyriofenone: a novel powdery mildew fungicide for grapevine. *Giornate Fitopatologiche 2012, Milano Marittima (RA), 13-16 marzo 2012*, 201-206.
- Opalski, K. S., Tresch, S., Kogel, K. H., Grossmann, K., Köhle, H., and Hüchelhoven, R. (2006). Metrafenone: studies on the mode of action of a novel cereal powdery mildew fungicide. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 62(5), 393-401.

- Pearson, R. C., and Gadoury, D. M. (1987). Cleistothecia, the source of primary inoculum for grape powdery mildew in New York. *Phytopathology*, 77(11), 1509-1514.
- Pearson, R.C. and Gadoury, D.M. (1992) Grape powdery mildew. In: *Plant Diseases of International Importance*, Vol. III. Diseases of Fruit Crops (Kumar, J., Chaube, H.S., Singh, U.S. and Mukhopadhyay, A.N., eds), 129–146. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.
- Pearson, R. C., and Goheen, A. C. (1988). *Compendium of grape diseases*. Aps Press.
- Peduto, F., Backup, P., Hand, E. K., Janousek, C. N., and Gubler, W. D. (2013). Effect of High Temperature and Exposure Time on *Erysiphe necator* Growth and Reproduction: Revisions to the UC Davis Powdery Mildew Risk Index . *Plant Disease*, 97(11), 1438–1447.
- Peros, J. P., Nguyen, T. H., Troulet, C., Michel-Romiti, C., and Notteghem, J. L. (2006). Assessment of powdery mildew resistance of grape and *Erysiphe necator* pathogenicity using a laboratory assay. *Vitis-geilweilerhof*, 45(1), 29-36.
- Pianella, F., Lodi, G., Pasquini, S., and Fioretti, C. S. (2006). Proquinazid: results of field trials performed in Italy with a novel fungicide for powdery mildew control in grapes. *Giornate Fitopatologiche 2006, Riccione (RN), 27-29 marzo 2006. Atti, volume secondo*, 251-256.
- Pintye, A., Nemeth, M. Z., Molnar, O., Horvath, A. N., Spitzmüller, Z., Szaloki, N., Pal, K., Vaczy, K.Z., and Kovacs, G. M. (2020). Improved DNA extraction and quantitative real-time PCR for genotyping *Erysiphe necator* and detecting the DMI fungicide resistance marker A495T, using single ascocarps. *Phytopathol. Mediterr*, 59, 97-106.
- Pirondi, A., Nanni, I. M., Brunelli, A., and Collina, M. (2014). First report of resistance to cyflufenamid in *Podosphaera xanthii*, causal agent of powdery mildew, from melon and zucchini fields in Italy. *Plant Disease*, 98(11), 1581-1581.
- Politi, A., Salgarollo, V. and Palmieri, R. (1996). BAS 490 F (Kresoxym-methyl): Strobilurin analogue fungicide at broad-spectrum activity. *Atti, Giornate fitopatologiche*, 2, 111-118.
- Pose-Juan, E., Rial-Otero, R., and Lopez-Periago, J. E. (2010). Sorption of penconazole applied as a commercial water–oil emulsion in soils devoted to vineyards. *Journal of hazardous materials*, 182(1-3), 136-143.
- Prandi, M., Morando, A., Lembo, S., Bevione, D., and Morando, P. (2002). Control of grapevine powdery mildew with different products. *Atti, Giornate fitopatologiche, Baselga di Piné, Trento, Italy, 7-11 aprile 2002, Volume 2*, 365-368.
- Qiu, W., Feechan, A., and Dry, I. (2015). Current understanding of grapevine defense mechanisms against the biotrophic fungus (*Erysiphe necator*), the causal agent of powdery mildew disease. *Horticulture research*, 2, 15020.
- Rallos, L.E.E. (2012). *Characterizing resistance of the grapevine powdery mildew Erysiphe necator to fungicides belonging to quinone outside inhibitors and demethylation inhibitors*. Dissertation, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Rallos, L. E. E., Johnson, N. G., Schmale III, D. G., Prussin, A. J., and Baudoin, A. B. (2014). Fitness of *Erysiphe necator* with G143A-based resistance to quinone outside inhibitors. *Plant Disease*, 98(11), 1494-1502.
- Rallos, L. E. E., and Baudoin, A. B. (2016). Co-occurrence of two allelic variants of CYP51 in *Erysiphe necator* and their correlation with over-expression for DMI resistance. *PLoS One*, 11(2), e0148025.
- Rather, T. R., and Bhat, Z. A. (2019). Bioefficacy studies of new fungicide molecules (Proquinazid 20 EC) against powdery mildew of apple. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1), 1963-1965.

- Redl, M., Sitavanc, L., Hanousek, F., and Steinkellner, S. (2021). A single out-of-season fungicide application reduces the grape powdery mildew inoculum. *Crop Protection*, 149, 105760.
- Rossi, V., Caffi, T., and Legler, S. E. (2010). Dynamics of Ascospore Maturation and Discharge in *Erysiphe necator*, the Causal Agent of Grape Powdery Mildew. *Phytopathology*, 100(12), 1321–1329.
- Rubboli, V., Ortugno, C., Coatti, M., and Gualco, A. (2014). Dynali®, new cyflufenamid and difenoconazole based grape fungicide against powdery mildew and black rot. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (Siena), 18-21 marzo 2014, Volume secondo*, 289-298.
- Rügener, A., Rumbolz, J., Huber, B., Bleyer, G., Gisi, U., Kassemeyer, H. H., and Guggenheim, R. (2002). Formation of overwintering structures of *Uncinula necator* and colonization of grapevine under field conditions. *Plant pathology*, 51(3), 322-330.
- Rumbolz, J., and Gubler, W. D. (2005). Susceptibility of grapevine buds to infection by powdery mildew *Erysiphe necator*. *Plant pathology*, 54(4), 535-548.
- Sancassani, G. P., and Rho, G. (2002). Evaluation of trifloxystrobin efficacy in grapevine powdery mildew management. *Atti, Giornate fitopatologiche, Baselga di Piné, Trento, Italy, 7-11 aprile 2002, Volume 2*, 369-373.
- Sall, M. A. (1980). Epidemiology of grape powdery mildew: a model. *Phytopathology*, 70(4), 338-342.
- Sano, S., Kasahara, I., and Yamanaka, H. (2007). Development of a novel fungicide, cyflufenamid. *Journal of Pesticide Science*, 32(2), 137-138.
- Savary, S., Delbac, L., Rochas, A., Taisant, G., and Willocquet, L. (2009). Analysis of nonlinear relationships in dual epidemics, and its application to the management of grapevine downy and powdery mildews. *Phytopathology*, 99(8), 930-942.
- Savocchia S., Stummer B.E., Wicks T.J., van Heeswijk, R., and Scott E. (2004). Reduced sensitivity to sterole demethylation inhibiting fungicide in southern Australian vineyards. *Australasian Plant Pathology*, 33: 465-473.
- Scott ES (2001) Detecting DMI resistant strains of the grapevine powdery mildew fungus using molecular probes. The University of Adelaide. <https://www.wineaustralia.com/research/search/completed-projects/ua-99-3>. (Preuzeto 05.02.2023.)
- Sierotzki, H., Wullschleger, J., and Gisi, U. (2000). Point mutation in cytochrome b gene conferring resistance to strobilurin fungicides in *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* field isolates. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 68(2), 107-112.
- Sierotzki, H., Frey, R., Wullschleger, J., Palermo, S., Karlin, S., Godwin, J., and Gisi, U. (2007). Cytochrome b gene sequence and structure of *Pyrenophora teres* and *P. tritici-repentis* and implications for QoI resistance. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 63(3), 225-233.
- Sierotzki, H., and Scalliet, G. (2013). A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Phytopathology*, 103(9), 880-887.
- Sirven, C., and Beffa R. (2003). Resistance to fenamidone: monitoring by real-time PCR on *Plasmopora viticola*. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer English ed.* 56, 523-532.
- Scalliet, G., Boehler, M., Bowler, J., Green, P.S., Kilby, P.M. and Fonne-Pfister, R. (2010) SDHIs and fungal succinate dehydrogenase. *Modern Fungicides and Antifungal compounds V*. Proceedings 16th International Reinhardsbrunn Symposium 2010, 171-178.

- Scalliet, G., Bowler, J., Luksch, T., Kirchhofer-Allan, L., Steinhauer, D., Ward, K., and Fonné-Pfister, R. (2012). Mutagenesis and functional studies with succinate dehydrogenase inhibitors in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *PLoS One*, 7(4), e35429.
- Scannavini, M., Cavazza, F., and Franceschelli, F. (2006). Trials of several years for grape powdery mildew control with metrafenone and kresoxim-methyl+ boscalid in Emilia Romagna. *Giornate Fitopatologiche 2006, Riccione (RN), 27-29 marzo 2006. Atti, volume secondo*, 245-250.
- Scannavini, M., Cavazza, F., and Franceschelli, F. (2012). First trials to verify the pyriofenone efficacy in control of grape powdery mildew in Emilia-Romagna. *Giornate Fitopatologiche 2012, Milano Marittima (RA), 13-16 marzo 2012*, 347-350.
- Schmitt, M. R., Carzaniga, R., Cotter, H. V. T., O'connell, R., and Hollomon, D. (2006). Microscopy reveals disease control through novel effects on fungal development: a case study with an early-generation benzophenone fungicide. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 62(5), 383-392.
- Sozzani, F., Morando, A., and Morando, D. (2008). Efficacy of new active substances in the prevention of grapevine powdery mildew. *Giornate Fitopatologiche 2008, Cervia (RA), 12-14 marzo 2008, Volume 2*, 329-334.
- Sozzani, F., Morando, A., and Lavezzaro, S. (2010). Grapevine protection against powdery mildew in Piedmont: control of on-going infections. *Giornate Fitopatologiche 2010, Cervia (RA), Italia, 9-12 marzo 2010. Atti, volume secondo*, 311-316.
- Stammler G., Semar M. and Strobel D. (2014). Resistance management of metrafenone in powdery mildews. In *Modern fungicides and antifungal compounds VII. Proceedings of the 17th International Reinhardsbrunn Symposium, Friedrichroda, Germany, April 21-25, 2013*, (pp. 179-184). Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft eV Verlag.
- Stark-Urnau, M., and Kast, W. K. (1999). Development of ontogenetic resistance to powdery mildew in fruit of differently susceptible grapevines (cvs. Trollinger and Lemberger). *Mitteilungen Klosterneuburg Rebe und Wein, Obstbau und Früchteverwertung*, 49(5), 186-189.
- Steinkellner, S., and Redl, H. (2001). Sensitivity of *Uncinula necator* populations following DMI-fungicide usage in Austrian vineyards. *Bodenkultur*, 52(4), 293-299.
- Stergiopoulos, I., Aoun, N., van Huynh, Q., Neill, T., Lowder, S. R., Newbold, C., Cooper M.L., Ding, S., Moyer, M. M., Miles, T. D., Oliver, C. L., Urbez-Torres, J.R., and Mahaffee, W. F. (2022). Identification of Putative SDHI Target Site Mutations in the SDHB, SDHC, and SDHD Subunits of the Grape Powdery Mildew Pathogen *Erysiphe necator*. *Plant Disease*, 106(9), 2310-2320.
- Tabanelli, G. L., Ronga, G., Pancaldi, M., Ferri, I., Tarlazzi, S., and Quaglini, L. (2014). Fluxapyroxad (Xemium®), new broad spectrum SDHI fungicide. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (Siena), 18-21 marzo 2014, Volume secondo*, 3-10.
- Taksonyi, P., Kocsis, L., Matyas, K. K., and Taller, J. (2013). The effect of quinone outside inhibitor fungicides on powdery mildew in a grape vineyard in Hungary. *Scientia Horticulturae*, 161, 233-238.
- Terral J.F., Tabard E., Bouby L., Ivorra S., Pastor T., Figueiral I., Picq S., Chevance J.B, Jung C., Fabre L., Tardy C., Compan M., Bacilieri R., Lacombe T. and This P. (2010). Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. *Annals of Botany*, 105: 443-455.

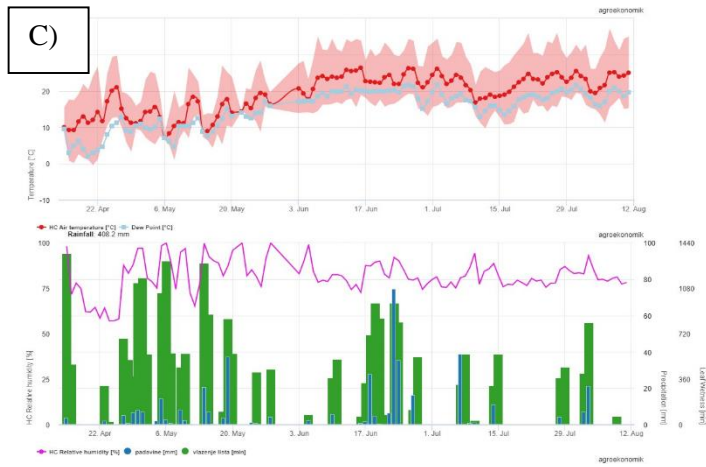
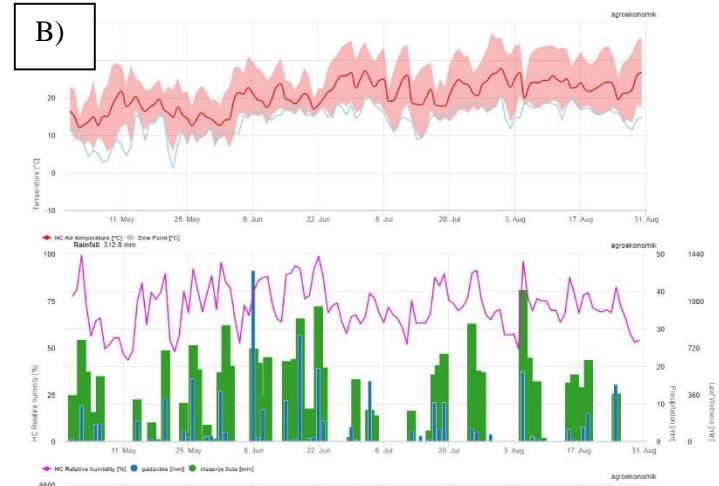
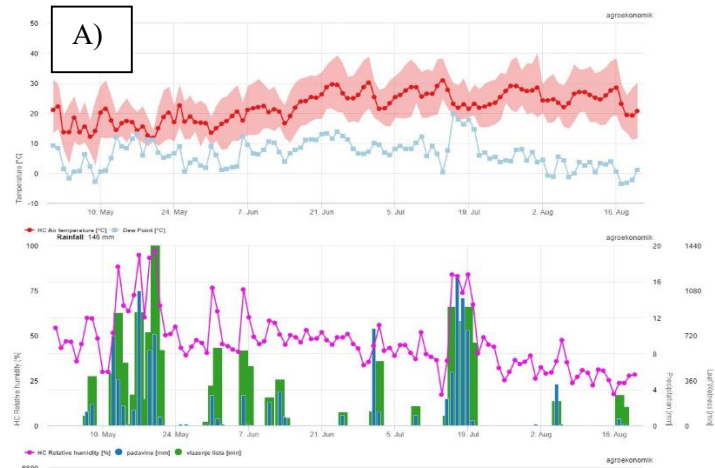
- Thiessen, L.D. (2016). *Overwintering of Erysiphe necator and Inoculum Monitoring for Decision Aids*. Dissertation, Oregon State University.
- Thiessen, L. D., Keune, J. A., Neill, T. M., Turechek, W. W., Grove, G. G., and Mahaffee, W. F. (2016). Development of a grower-conducted inoculum detection assay for management of grape powdery mildew. *Plant Pathology*, 65(2), 238-249.
- Thiessen, L. D., Neill, T. M., and Mahaffee, W. F. (2017). Timing fungicide application intervals based on airborne *Erysiphe necator* concentrations. *Plant Disease*, 101(7), 1246-1252.
- Thiessen, L. D., Neill, T. M., and Mahaffee, W. F. (2018). Assessment of *Erysiphe necator* ascospore release models for use in the Mediterranean climate of Western Oregon. *Plant disease*, 102(8), 1500-1508.
- Townsend, G. R., Heuberger, J. V. (1943). Methods for estimating losses caused by disease in fungicide experiments. *Plant Disease rep.* 24, 340-343.
- Valdés-Gómez, H., Araya-Alman, M., Pañitrur-De la Fuente, C., Verdugo-Vásquez, N., Lolas, M., Acevedo-Opazo, C., Gary, C. and Calon nec, A. (2017). Evaluation of a decision support strategy for the control of powdery mildew, *Erysiphe necator* (Schw.) Burr., in grapevine in the central region of Chile. *Pest management science*, 73(9), 1813-1821.
- Valente, M., Allegri, A., Donati, G., Dongiovanni, C., Fagioli, L., Faretra, F., Gaia, U., Lavezzaro, S., Posentano, G., Pradolesi, G., Ronco, D., Tabanelli, G. L., and Tocchini, A. (2018). Disease management strategies against grape powdery mildew with fluxapyroxad (Xemium®) and metrafenone in Italy. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (SI), Italia, 6-9 marzo 2018, Volume secondo*, 111-120.
- Veloukas, T., and Karaoglanidis, G. S. (2012). Biological activity of the succinate dehydrogenase inhibitor fluopyram against *Botrytis cinerea* and fungal baseline sensitivity. *Pest Management Science*, 68(6), 858-864.
- Veloukas, T., Markoglou, A. N., and Karaoglanidis, G. S. (2013). Differential effect of Sdh B gene mutations on the sensitivity to SDHI fungicides in *Botrytis cinerea*. *Plant disease*, 97(1), 118-122.
- Vielba-Fernández, A., Polonio, Á., Ruiz-Jiménez, L., de Vicente, A., Pérez-García, A., and Fernández-Ortuño, D. (2020). Fungicide resistance in powdery mildew fungi. *Microorganisms*, 8(9), 1431.
- Viglione, P., Ferrari, D., Crovella, P., Ronco, D., and Rubboli, V. (2014). Evaluation of cyflufenamid applied alone or in ready mixture with difenoconazole against grapevine powdery mildew. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (Siena), 18-21 marzo 2014, Volume secondo*, 281-288.
- Warneke, B. (2018). *Grape Powdery Mildew Management: The Interaction Between Inflorescence Stage and Fungicide Chemistry*. Master Thesis, Oregon State University.
- Warres, B. (2021). *Fungicide efficacy and resistance management for Erysiphe necator*. Master thesis, University of Georgia.
- Wheeler, I. E., Hollomon, D. W., Gustafson, G., Mitchell, J. C., Longhurst, C., Zhang, Z., and Gurr, S. J. (2003). Quinoxifen perturbs signal transduction in barley powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*). *Molecular plant pathology*, 4(3), 177-186.
- Wicks, T., Hitch, C. and Emmett, B. (2003). Effects of sulphur formulations on the development of grape powdery mildew. In Strategic use of sulphur in integrated pest and disease management (IPM) programs for grapevines. *Final Report to GWRDC, Project Number L DAV*, 98(1), 58-75.

- Wilcox, W. F. (2005). Occurrence and management of QoI fungicide resistance in grape vineyards. (Abstr.) *Phytopathology* 95:S143.
- Wilcox, W. F., Burr, J. A., Riegel, D. G., and Wong, F. P. (2003). Practical resistance to QoI fungicides in New York populations of *Uncinula necator* associated with quantitative shifts in pathogen sensitivities. *Phytopathology*, 93, S90.
- Wilcox, W. F., Gubler, W. D., and Uyemoto, J. K. (Eds.). (2015). *Compendium of grape diseases, disorders, and pests* (pp. 39-45). Tomball, TX: APS Press, The American Phytopathological Society.
- Willoquet, L., Colombet, D., Rougier, M., Fargues, J., and Clerjeau, M. (1996). Effects of radiation, especially ultraviolet B, on conidial germination and mycelial growth of grape powdery mildew. *European Journal of Plant Pathology*, 102(5), 441-449.
- Willoquet, L., and Clerjeau, M. (1998). An analysis of the effects of environmental factors on conidial dispersal of *Uncinula necator* (grape powdery mildew) in vineyards. *Plant Pathology*, 47(3), 227-233.
- Wittrock, A., Trauth, B., and Metz, N. (2010). Meptyldinocap-a highly active fungicide with curative, eradicator and protectant activity against powdery mildew (*Uncinula necator* [*Erysiphe necator*]) on grapevine. *Julius-Kühn-Archiv*, (428).
- Wong, F. P., and Wilcox, W. F. (2002). Sensitivity to azoxystrobin among isolates of *Uncinula necator*: Baseline distribution and relationship to myclobutanil sensitivity. *Plant Disease*, 86(4), 394-404.
- Ypema, H. L., Ypema, M., and Gubler, W. D. (1997). Sensitivity of *Uncinula necator* to benomyl, triadimefon, myclobutanil, and fenarimol in California. *Plant Disease*, 81(3), 293-297.
- Zappata, A., Cantoni, A., Lazzati, S., and Veronesi, L. (2002). Spiroxamine (Prosper®): a new active ingredient for the control of *Uncinula necator*. *Atti, Giornate fitopatologiche, Basella di Piné, Trento, Italy, 7-11 aprile 2002, Volume 2*, 131-136.
- Zappata, A., Pancaldi, M., Valente, M., Tarlazzi, S., Ronga, G., Tabanelli, G., Pizzi, P., Muratori, C., Andreetta, D., Romagnoli, C., Gentili, E., Sassanelli, A., Marchi, A., and Zito R. (2020). Mefentrifluconazole, wide spectrum innovative triazole. *Atti, Giornate fitopatologiche*, 2, 3-10.
- Ziogas, V. N., and Malandrakis, A. A. (2015). Sterol biosynthesis inhibitors: C14 demethylation (DMIs). *Fungicide Resistance in Plant Pathogens: Principles and a Guide to Practical Management*, 199-216.
- Делибашић, Г., Гајић, С. И Аћимовић, С. (2006). Гљивична обољења дрвета винове лозе. *Пестициди и фитомедицина*, 21 (2), 93-107.
- Делибашић, Г., Тановић, Б., Латинковић, Н., Хрустић, Ј., Михајловић, М., Граховац, М., и Алексић, Г. (2018). Економски значајније псеудомикозе и микозе винове лозе. *Биљни лекар*, 46 (6), 631-646.
- Иванишевић, Д. и Јакшић, Д. Виноградарство Србије кроз статистику и рејонизацију. Преузето 15.01.2023. године.
<https://cdn.agroklub.com/upload/documents/vinogradarstvo-srbije-kroz-statistiku-i-rejonizaciju.pdf>
- Ивановић, М. и Ивановић, М. (2017): *Болести воћака и винове лозе*. Београд (Србија): Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет.
- Миладиновић, З., Вукша, П. и Милетић, Н. (2007а). *Uncinula necator* (Schow) Burr. проузроковач пепелнице винове лозе: значај, особине и могућности сузбијања. *Пестициди и фитомедицина*, 22 (1), 25-38.

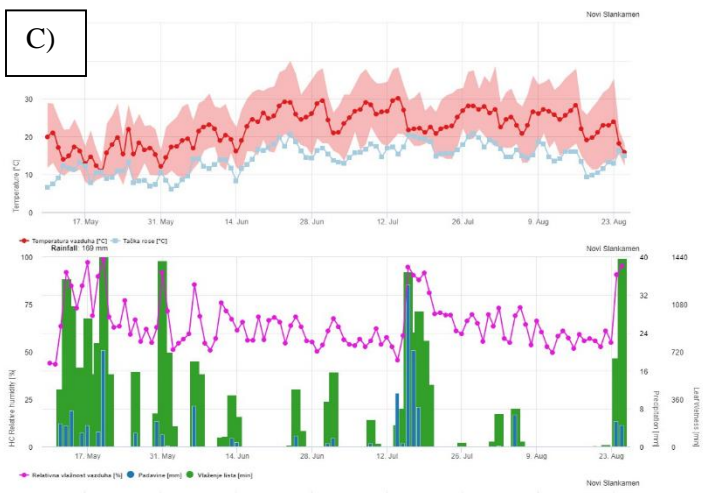
- Миладиновић, З., Вукша, П. и Милетић, Н. (2007б). *Uncinula necator* (Schow) Burr. проузроковач пепелнице винове лозе: значај зимског и рано пролетњег третирања биљака. *Пестициди и фитомедицина*, 22 (4), 277-284.
- Миладиновић, З., Вукша, П. и Милетић, Н. (2008). *Uncinula necator* (Schow) Burr.: ефикасност појединачних фунгицида у производним условима и на калемовима. *Пестициди и фитомедицина*, 23 (1), 43-50.
- Републички завод за статистику (2022). Статистички годишњак. Преузето 15.01.2023. године. <https://publikacije.stat.gov.rs/G2022/Pdf/G20222055.pdf>
- Стевић, М. (2020). *Фунгициди*. Београд (Србија): Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет.

ПРИЛОЗИ

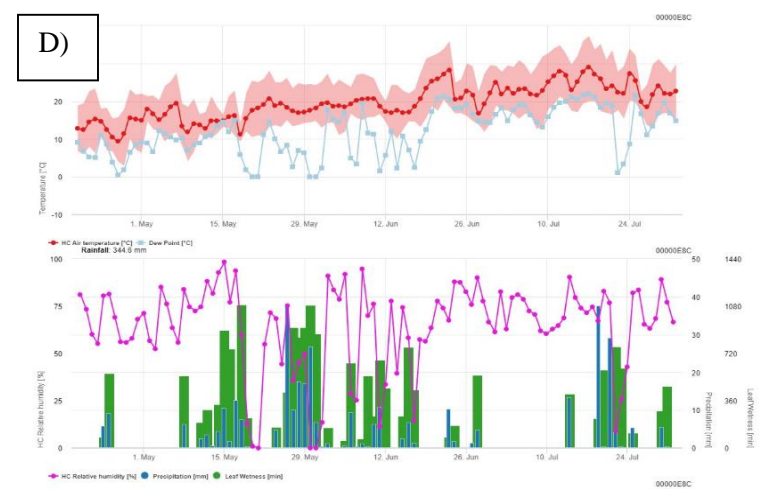
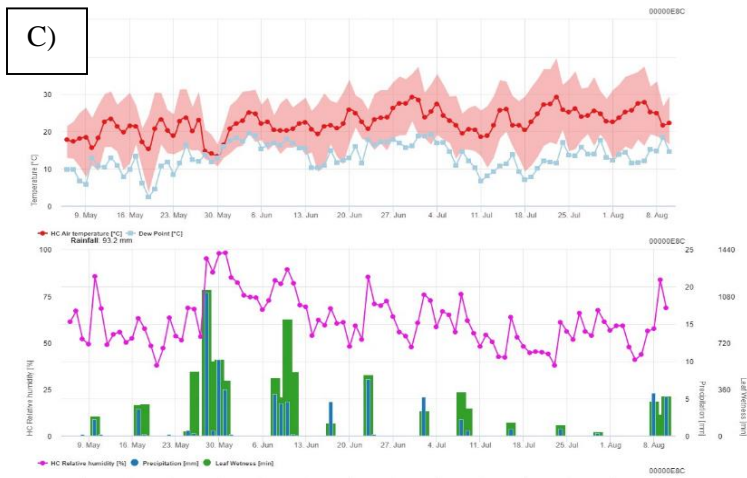
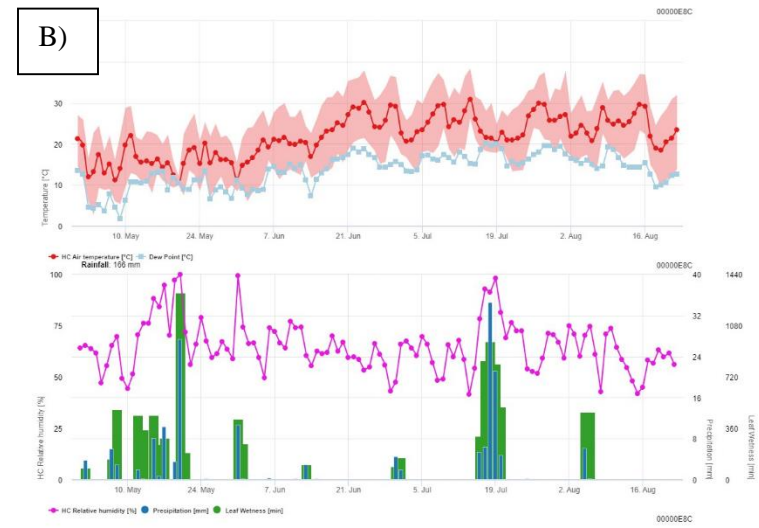
ПРИЛОГ 1.



Графикон П1-1. Метеоролошки подаци за локалитет Радмиловац: А) 2019. год.; В) 2020. год.; С) 2021. год.

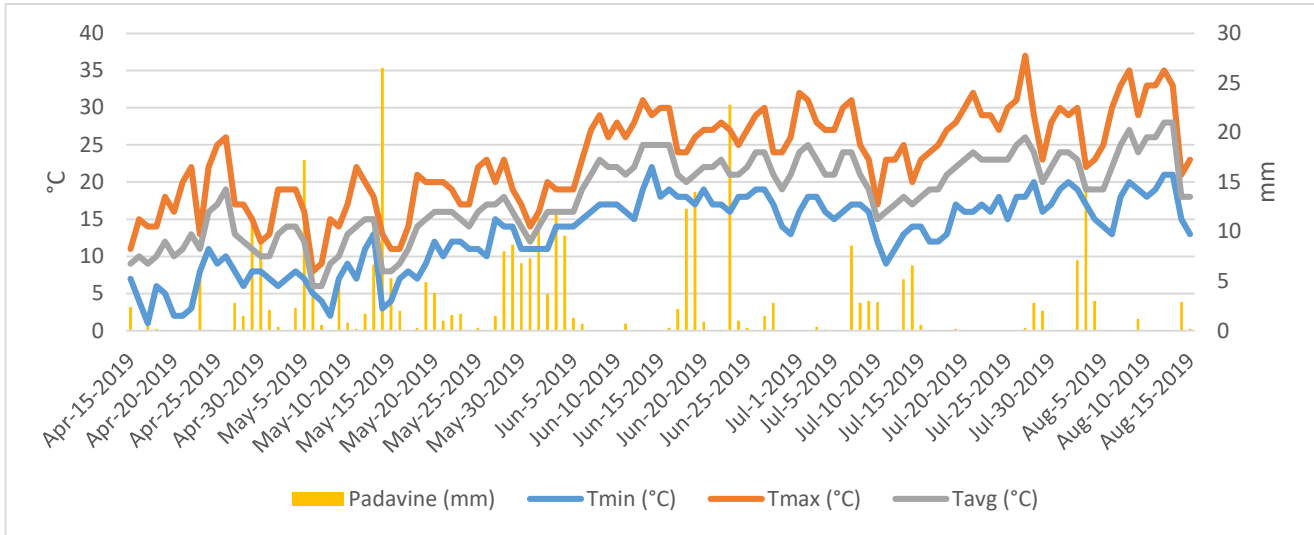


Графикон П1-2. Метеоролошки подаци за локалитет Сланкаменачки Виногради: А) 2019. год.; В) 2020. год.; С) 2021. год.; Д) 2023. год.

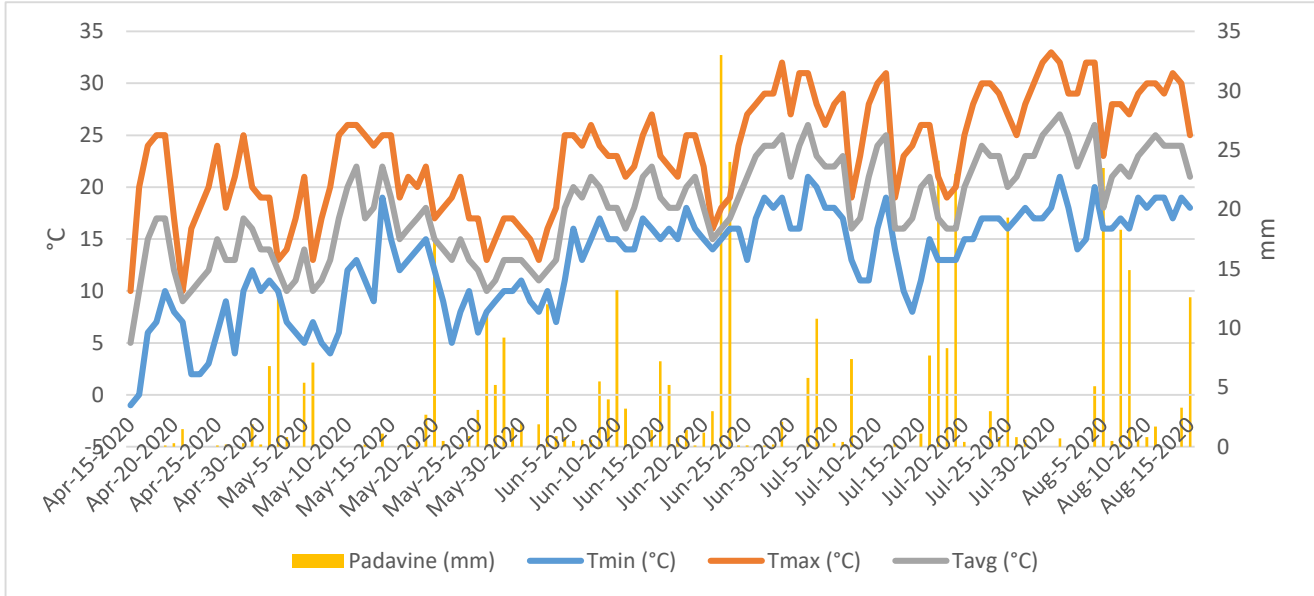


Графикон П1-3. Метеоролошки подаци за локалитет Нештин: А) 2020. год.; В) 2021. год.; С) 2022. год., D) 2023. год.

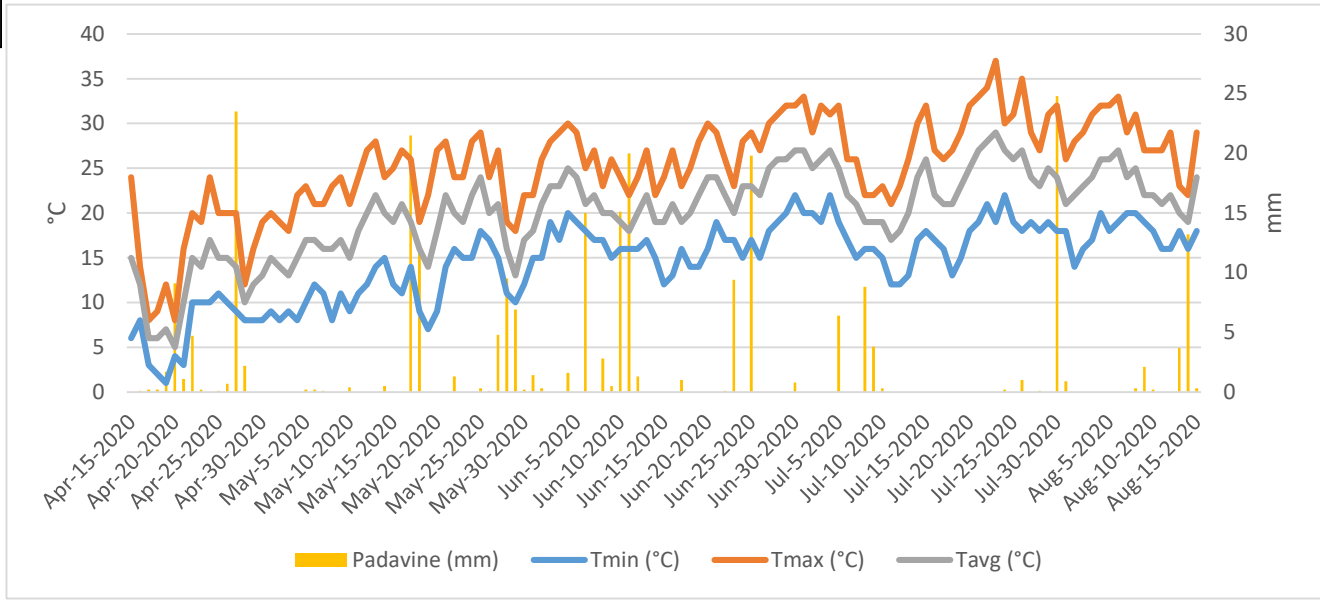
A)



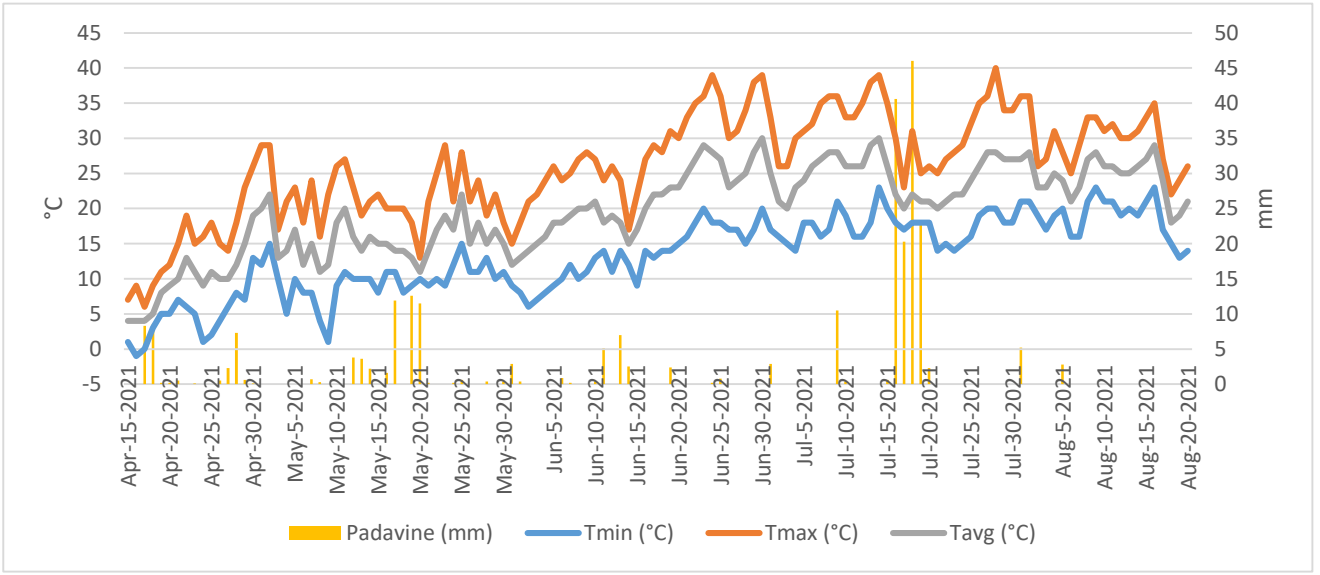
B)



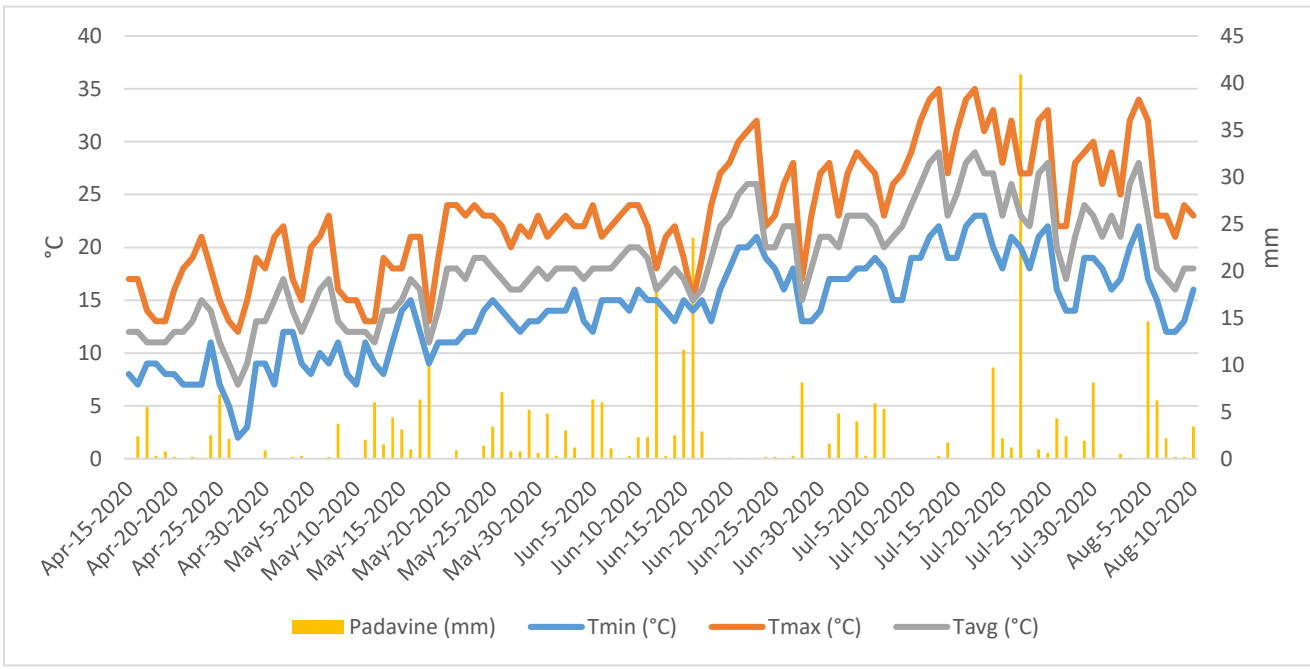
C)



D)



E)



Графикон П1-4. Метеоролошки подаци за локалитет Топола: А) 2019. год.; В) 2020. год.; С) 2021. год., D) 2022. год; E) 2023. год

ПРИЛОГ 2.

Табела П2. Профил резистентности/осетљивости изолата *E. necator* на QoI и DMI фунгициде

Изолат	Локалитет	Тип винограда	Година узорковања	%G143A (QoI)	Категорија (QoI)	Y136F детекција (DMI)		
RA1	Радмиловац	Експериментални	2019	99.9	Mutant	Негативно		
RA2			2019	99.8	Mutant	Негативно		
RA3			2021	99.6	Mutant	Негативно		
RA4			2019	99.9	Mutant	Негативно		
RA5			2019	99.2	Mutant	Негативно		
RA6			2019	99.4	Mutant	Негативно		
RA7			2019	99.9	Mutant	Позитивно		
RA8			2019	97.9	Mutant	Негативно		
RA9			2021	99.7	Mutant	Позитивно		
RA13			2021	100	Mutant	Негативно		
RA14			2019	98.5	Mutant	Негативно		
TO1			Топола	Комерцијални	2019	99.9	Mutant	Негативно
TO2					2019	99.7	Mutant	Позитивно
TO3					2020	98.6	Mutant	Негативно
TO4	2019	99.2			Mutant	Негативно		
TO5	2019	98.1			Mutant	Негативно		
TO6	2019	99.1			Mutant	Негативно		
TO7	2019	99.8			Mutant	Позитивно		
TO8	2020	99.6			Mutant	Негативно		
TO9	2019	99.8			Mutant	Негативно		
TO14	2019	98.7			Mutant	Негативно		
TO21	2021	99.7			Mutant	Позитивно		
TO22	2021	99.8			Mutant	Позитивно		
TO23	2021	99.7			Mutant	Позитивно		
TO24	2021	99.6			Mutant	Позитивно		
TO25	2021	98.7			Mutant	Негативно		
TO26	2021	99.7			Mutant	Позитивно		

Z1	Земун	Wild-type	2019	0	Wild-type	Негативно		
Z2			2019	0.01	Wild-type	Негативно		
Z3			2020	0	Wild-type	Негативно		
SL1	Сланкаменачки Виногради	Комерцијални	2021	98.9	Mutant	Негативно		
SL2			2021	99.4	Mutant	Негативно		
SL3			2021	100	Mutant	Негативно		
SL4			2021	95.3	Mutant	Позитивно		
SL5			2021	99.0	Mutant	Негативно		
SL6			2021	100	Mutant	Негативно		
SL7			2021	99.9	Mutant	Негативно		
SL8			2021	97.0	Mutant	Негативно		
SL9			2021	100	Mutant	Негативно		
SL10			2021	100	Mutant	Негативно		
SL11			2019	100	Mutant	Позитивно		
SL13			2019	99.6	Mutant	Негативно		
SL14			2019	Није анализиран		Негативно		
SL16			2020	100	Mutant	Позитивно		
SL17			2020	95.9	Mutant	Негативно		
SL18			2020	99.0	Mutant	Негативно		
NT1			Нештин	Комерцијални	2021	93.7	Mix	Негативно
NT2					2021	96.0	Mutant	Негативно
NT3	2021	100			Mutant	Позитивно		
NT4	2021	90.4			Mix	Негативно		
NT5	2022	95.7			Mutant	Позитивно		
NT6	2022	95.6			Mutant	Позитивно		
SK1	Скачак	Wild-type	2021	0.4	Wild-type	Негативно		
SK2			2021	4.5	Wild-type	Негативно		
SK3			2021	3.4	Wild-type	Негативно		
VŠ1	Вршац	Комерцијални	2022	100	Mutant	Негативно		
VŠ2			2022	99.5	Mutant	Позитивно		
VŠ3			2022	98.9	Mutant	Негативно		
VŠ4			2022	93.6	Mix	Позитивно		
VŠ5			2022	99.7	Mutant	Позитивно		
VŠ6			2022	99.3	Mutant	Позитивно		
ŽP1		Екстензивни	2022	28.3	Mix	Негативно		

ŽP2	Александровац (Жупа)	Комерцијални	2022	29.6	Mix	Негативно
ŽP3			2022	48.6	Mix	Позитивно
ŽP4			2022	80.8	Mix	Позитивно
ŽP5			2022	79.7	Mix	Позитивно
ŽP6			2022	72.0	Mix	Позитивно
ŽP7			2022	90.1	Mix	Позитивно
IR1	Ириг	Екстензивни	2021	19.7	Mix	Негативно
IR2			2021	44.8	Mix	Негативно
IR3			2021	34.0	Mix	Негативно
ЅЕ1	Черевих	Комерцијални	2021	99.6	Mutant	Негативно
ЅЕ2			2021	100	Mutant	Позитивно
ЅЕ3			2021	99.7	Mutant	Није анализиран
JA1	Јагодина	Комерцијални	2022	95.3	Mutant	Позитивно
JA2			2022	100	Mutant	Позитивно
JA3			2022	98.1	Mutant	Позитивно
JA4			2022	96.1	Mutant	Позитивно
JA5			2022	96.2	Mutant	Није анализиран
KR1	Крњево	Комерцијални	2022	100	Mutant	Позитивно
KR2			2022	99.4	Mutant	Позитивно
KR3			2022	99.3	Mutant	Позитивно
KR4			2022	99.4	Mutant	Позитивно
KR5			2022	99.6	Mutant	Негативно
AR1	Аранђеловац	Екстензивни	2022	46.2	Mix	Позитивно
AR2			2022	54.7	Mix	Позитивно
AR3			2022	47.8	Mix	Негативно
BZ1	Брезовац	Комерцијални	2022	58.6	Mix	Негативно
BZ2			2022	24.0	Mix	Позитивно
BZ3			2022	89.4	Mix	Позитивно
BZ4			2022	88.4	Mix	Није анализиран
SD1	Смедерево	Комерцијални	2022	99.9	Mutant	Позитивно
SD2			2022	100	Mutant	Позитивно
SD3			2022	99.7	Mutant	Позитивно

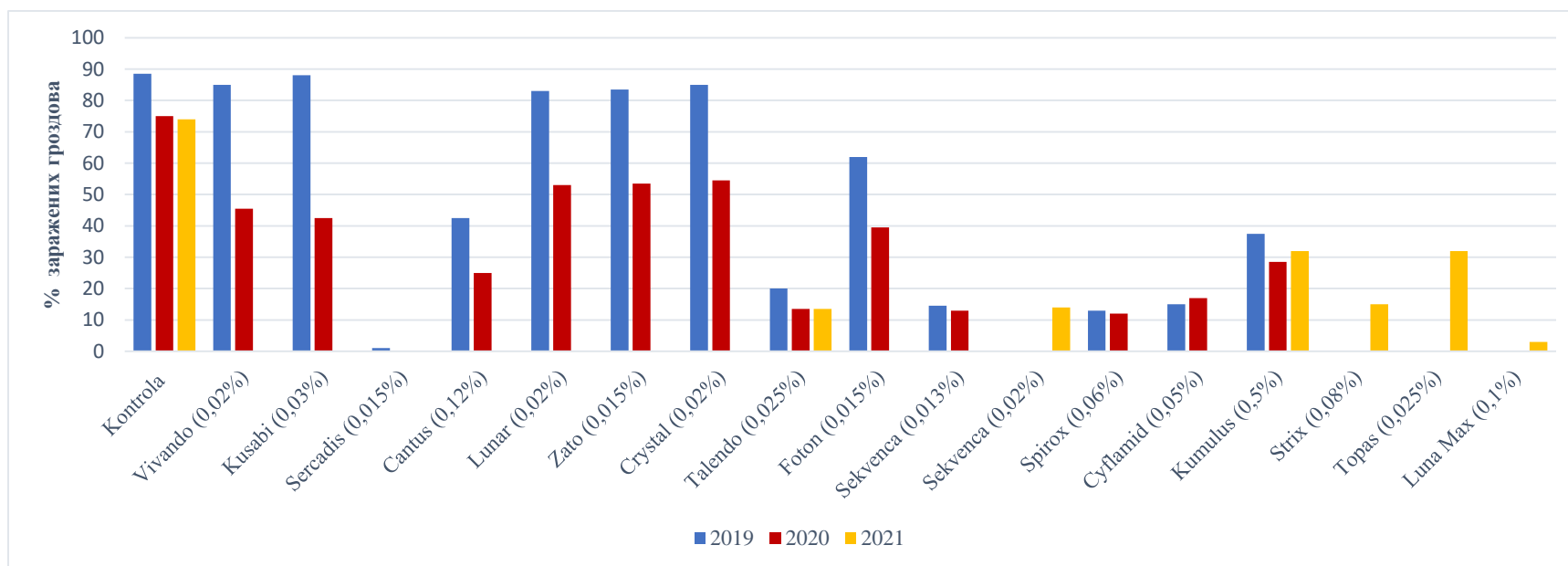
SD4			2022	99.6	Mutant	Позитивно
VPSS1			2022	59.4	Mix	Негативно
VPSS2	Велика Плана	Екстензивни	2022	33.0	Mix	Негативно
VPSS3			2022	60.3	Mix	Није анализиран
SOV1			Совљак (Уб)	Wild-type	2021	0
SOV2	2021	0			Wild-type	Негативно
SKR1	Сремски Карловаци	Екстензивни	2022	3.0	Wild-type	Позитивно
SKR2			2022	2.5	Wild-type	Негативно
TM1	Темерин	Комерцијални	2022	96.2	Mutant	Негативно
TM2			2022	96.4	Mutant	Позитивно
TM3			2022	93.8	Mix	Није анализиран
VL1	Власотинце	Комерцијални	2020	60.9	Mix	Негативно
VL2			2020	65.7	Mix	Позитивно
VL3			2020	59.9	Mix	Негативно
NG1	Неготин	Комерцијални	2022	95.1	Mutant	Негативно
NG2			2022	100	Mutant	Позитивно
NG3			2022	96.7	Mutant	Негативно

ПРИЛОГ 3.

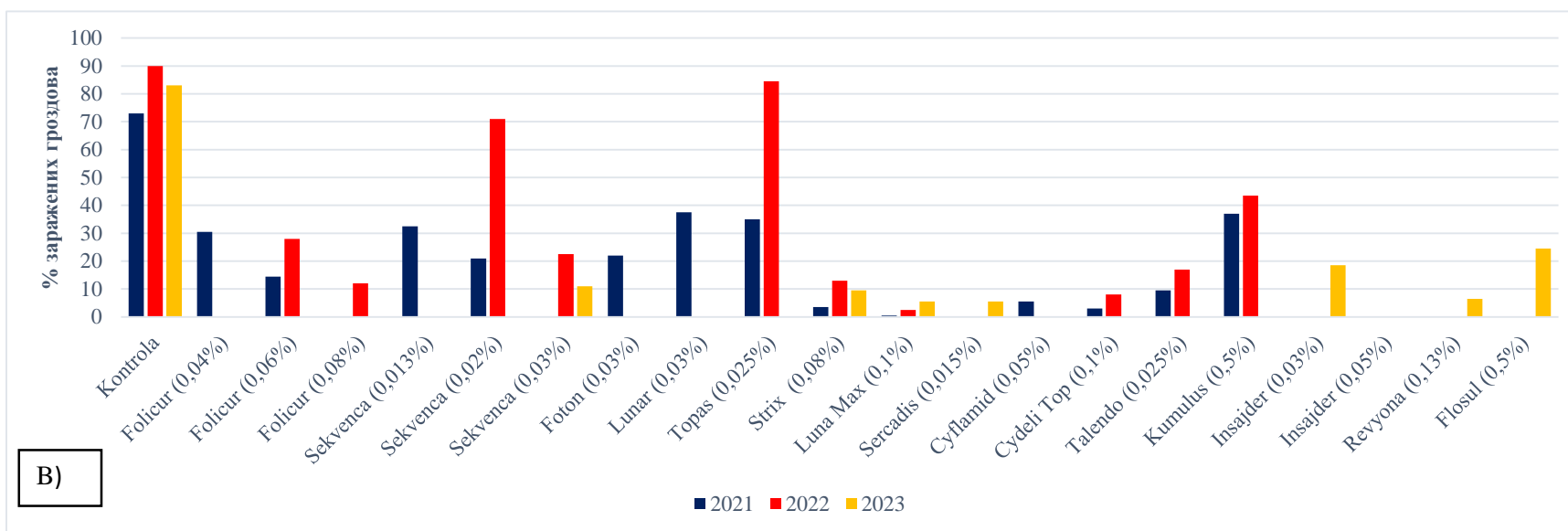
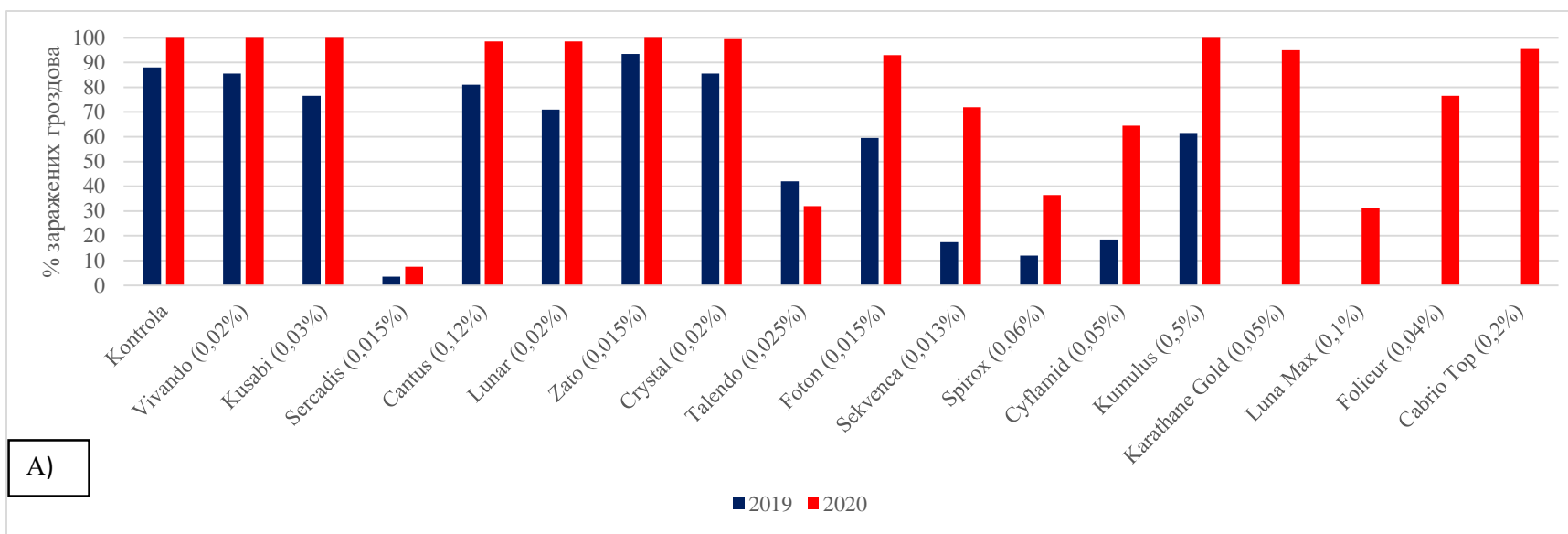
Табела ПЗ. Историја примене фунгицида у програмима заштите винове лозе од проузроковача пепелнице, на локалитетима са којих су прикупљени узорци са извођење биотестова и молекуларних анализа

No	Локалитет	Тип винограда	Просечан удео групе фунгицида у укупном броју третирања годишње (2011-2021)				
			QoI	Азанафталени	Арил-фенил кетони	DMI	SDHI
1.	Радмиловац	Експериментални	2-3	2-3	1-2	2-3	1-2
2.	Топола	Комерцијални	2-3	1-2	2-3	2-3	1-3
3.	Сланкаменачки Виногради	Комерцијални	3-4	1-2	0	3-4	0-1
4.	Нештин	Комерцијални	3-4	1-2	0	3-4	0-1
5.	Брезовац	Комерцијални	2	2	1	2-3	0-1
6.	Јагодина	Комерцијални	2-3	1	1	3-4	1-2
7.	Крњево	Комерцијални	2	1	2	3-4	1-2
8.	Смедерево	Комерцијални	2-3	1	2-3	2-3	1-2
9.	Вршац	Комерцијални	2-3	1-2	1-2	3-4	1-2
10.	Александровац	Комерцијални	1-2	1	1	3-4	0-1
11.	Темерин	Комерцијални	Непознато				
12.	Черевих	Комерцијални	2-3	Непознато	Непознато	3-4	Непознато
13.	Неготин	Комерцијални	Непознато			3-4	Непознато
14.	Властонице	Комерцијални	Непознато				
14.	Ириг	Екстензивни	1-2	1	1	2-3	Непознато
15.	Велика Плана	Екстензивни	1-2	0	0	2-3	Непознато
16.	Александровац	Екстензивни	Непознато				
17.	Аранђеловац	Екстензивни	1-2	1	0	2-3	0-1
18.	Сремски Карловци	Екстензивни	Непознато				
20.	Земун	Wild-type	Без претходне примене фунгицида				
21.	Скачак	Wild-type	Без претходне примене фунгицида				
22.	Совљак	Wild-type	Без претходне примене фунгицида				

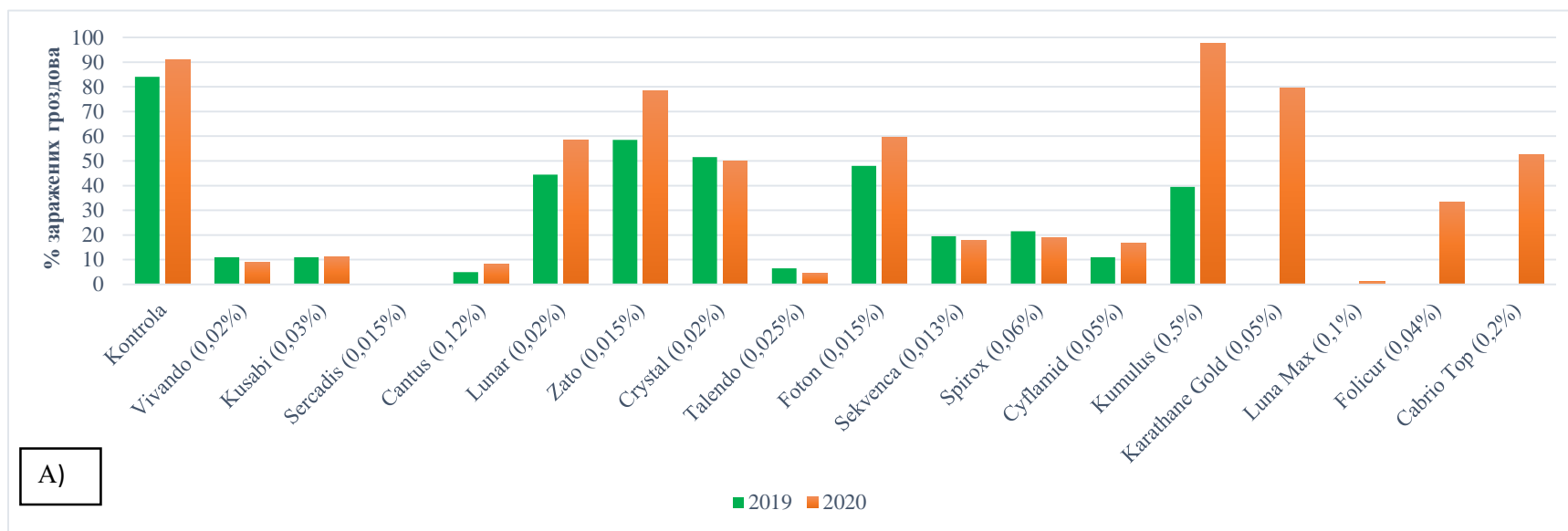
ПРИЛОГ 4.



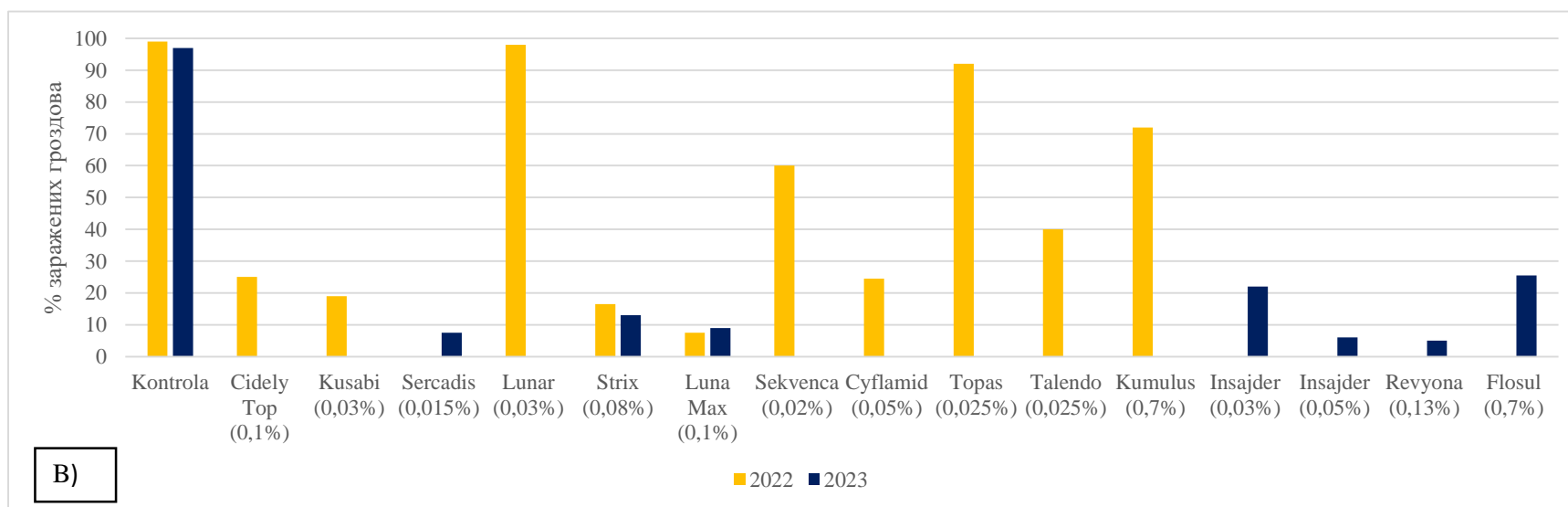
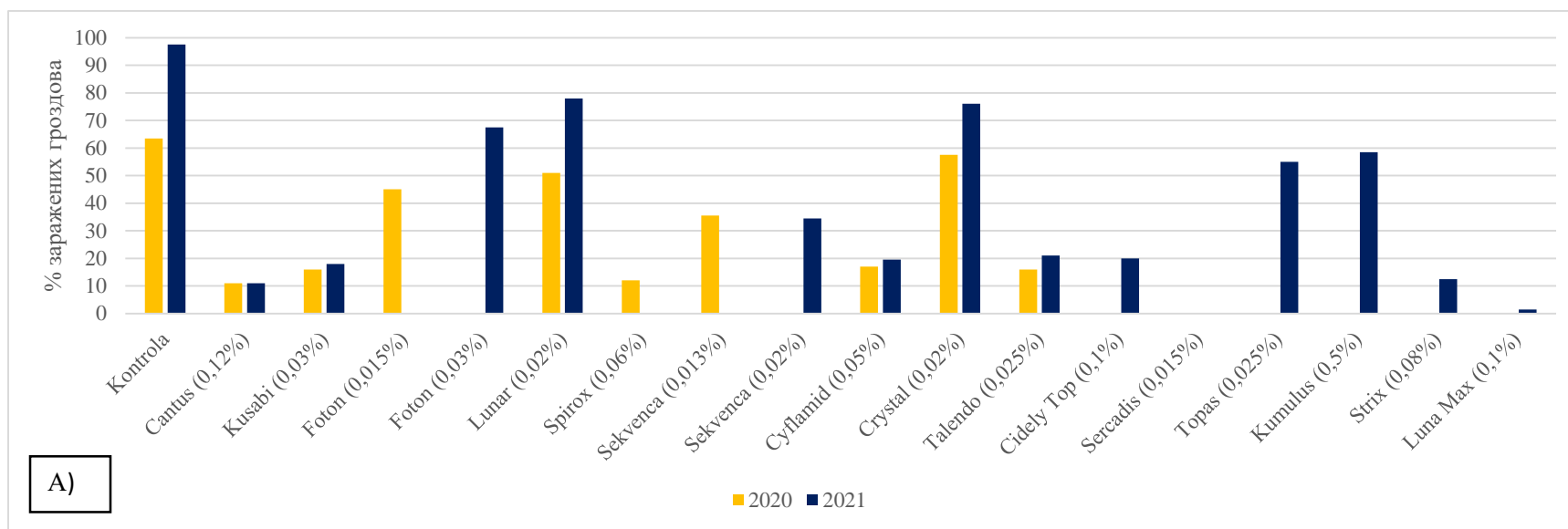
Графикон П4-1. Процент заражених гроздова (учесталост појаве симптома пепелнице) на локалитету Радмиловац: 2019-2021. год.



Графикон П4-2. Процент заражених гроздова (учесталост појаве симптома пепелнице) на локалитету Топола: А) 2019-2020. год.; В) 2021-2023. год.

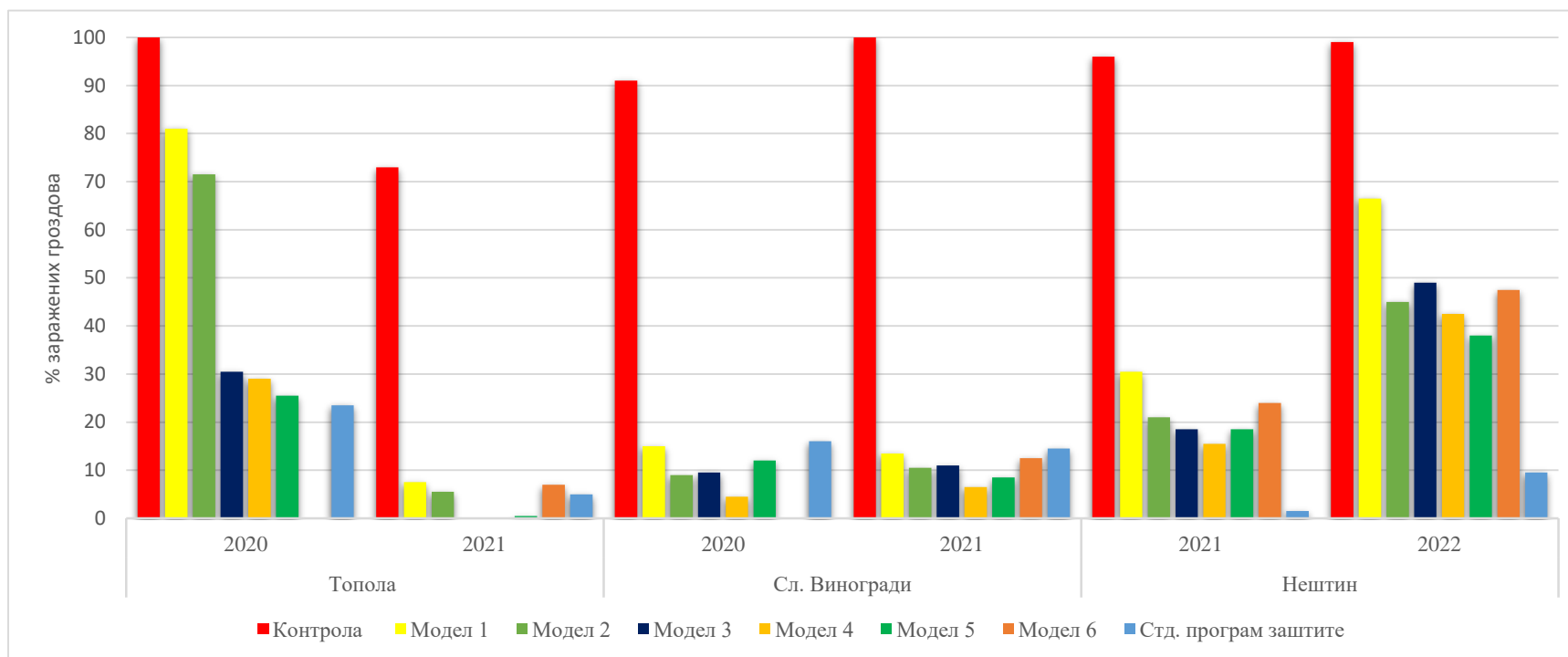


Графікон П4-3. Процент заражених гроздova (учесталост појаве симптома пепелнице) на локалитету Сл. Виногради: А) 2019-2020. год; В) 2021 и 2023. год.



Графикон П4-4. Процент заражених гроздова (учесталост појаве симптома пепелнице) на локалитету Нештин: А) 2020-2021. год; В) 2022-2023. год.

ПРИЛОГ 5.



Графикон П5-1. Процент заражених гроздова (учесталост појаве симптома пепелнице) у различитим моделима заштите винове лозе од *E. necator*

БИОГРАФИЈА

Мастер инж. Урош 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 као стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије ангажован је 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.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Име и презиме аутора Урош Војиновић

Број индекса ФМ170037

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Осетљивост популација *Erysiphe necator* на фунгициде различитих механизма деловања у Србији

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

Потпис аутора

У Београду, _____

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКОГ РАДА**

Име и презиме аутора Урош Војиновић

Број индекса ФМ170037

Студијски програм Пољопривредне науке

Наслов рада Осетљивост популација *Erysiphe necator* на фунгициде различитих
механизама деловања у Србији

Ментор др Милан Стевић, редовни професор, Универзитет у Београду –
Пољопривредни факултет

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањења у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

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

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

Потпис аутора

У Београду, _____

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

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

Осетљивост популација *Erysiphe necator* на фунгициде различитих механизма деловања у Србији

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
- ③. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

У Београду, _____

Потпис аутора

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