

## UTICAJ BAKAR-CITRATA NA PORAST KOLONIJA *VENTURIA INAEQUALIS*

GORAN ALEKSIĆ, ZORAN MILIĆEVIĆ, TATJANA POPOVIĆ, MIRA STAROVIĆ,  
SLOBODAN KUZMANOVIĆ, DOBRIVOJ POŠTIĆ, VELJKO GAVRILOVIĆ

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd  
e-mail: algoran@sezampro.rs

### REZIME

Bakar-citrat je kompleksno jedinjenje bakra koje se odlikuje višim stepenom disocijacije u odnosu na druga bakarna jedinjenja koja su trenutno u primeni pa se može koristiti u nižim koncentracijama za suzbijanje biljnih patogena. Čađava pegavost lista i krastavost plodova (*Venturia inaequalis*) je jedna od ekonomski najštetnijih bolesti jabuke u svim regionima gde se ova voćna vrsta gaji. Uspešna proizvodnja jabuke nije moguća bez izvođenja intenzivnih hemijskih mera zaštite. Primena preparata na bazi bakra u zaštiti jabuke, pozicionirana je na sam početak vegetacije. Najranije zaraze jabuke su i najdestruktivnije, pa je efikasna zaštita jabuke u ovom periodu veoma važna. Cilj ovog rada je da se u *in vitro* uslovima ispita uticaj bakar-citrata u različitim koncentracijama primene na porast kolonija *Venturia inaequalis*. Dobijeni rezultati pokazuju da bakar citrat u znatno nižim koncentracijama primene 0,2 i 0,1% nego standardni preparat, efikasno blokira porast micelije (kolonija) fitopatogene gljive *V. inaequalis*, što je rezultat znatno veće količine bakarnih jona koje ovo jedinjenje oslobađa.

**Ključne reči:** Čađava krastavost, bakar-citrat, porast kolonija, efikasnost

### UVOD

Uspešna primena preparata na bazi bakra u suzbijanju prouzrokovala biljnih bolesti datira više od 100 godina unazad. Kao jedinjenja sa nespecifičnim mehanizmom delovanja još uvek se uspešno primenjuju sa nesmanjenom efikasnošću u suzbijanju biljnih patogena. S druge strane kao rezultat dugogodišnje primene bakarnih preparata, formiran je veliki depo bakra u zemljištu voćnjaka, koji izaziva negativne ekološke efekte kao i štene efekte na korisne zemljišne organizme i plodnost zemljišta (Georgopoluos et all. 2001, Van Zwieten et all. 2004). Čađava pegavost lista i krastavost plodova (*Venturia inaequalis* (Cooke) Winter) je jedna od ekonomski najštešnijih bolesti jabuke u svim regionima gde se ova voćna vrsta gaji (Ivanović, 2001). Uspešna proizvodnja jabuke nije moguća bez izvođenja intenzivnih hemijskih mera zaštite. Primena preparata na bazi bakra u zaštiti jabuke, pozicionirana je na sam početak vegetacije do fenofaze roze pupoljka (BBCH 57). Najranije zaraze jabuke su i najdestruktivnije,

pa je efikasna zaštita jabuke u ovom periodu veoma važna. Danas je u prometu veliki broj preparata na bazi bakra i to su uglavnom preparati na bazi bakar-hidroksida, bakar-oksida, bakar-oksihlorida i bakar-sulfata. Biološka aktivnost fungicida, odnosno baktericida na bazi bakra meri se količinom slobodnih  $\text{Cu}^{2+}$  jona raspoloživih za usvajanje od strane gljiva ili bakterija, tako da biološka aktivnost fungicida ili baktericida raste sa povećanjem količine oslobođenih  $\text{Cu}^{2+}$  jona (Martinez, 2008). Bakar-citrat je kompleksno jedinjenje bakra koje se odlikuje višim stepenom disocijacije u odnosu na druga bakarna jedinjenja koja su trenutno u primeni pa se može koristiti u nižim koncentracijama za suzbijanje biljnih patogena (Popović i sar., 2012). To je veoma značajno i sa ekološkog aspekta, jer intenzivna primena bakra dovodi do njegove akumulacije u površinskim slojevima zemljišta, čime se narušava biološka aktivnost i plodnost zemljišta. S druge strane, bakar-citrat nema izraženo toksično delovanje na ribe, ptice, sisare i pčele, pa bi njegovo uvođenje u primenu bilo i u tom smislu prihvatljivo.

Cilj ovog rada je da se u *in vitro* uslovima ispita uticaj bakar-citrata u različitim koncentracijama primene na porast kolonija *Venturia inaequalis*, prouzrokovača čađave krastavosti jabuke, u poređenju sa preparatima na bazi bakar hidroksida koji se koriste u standardnoj zaštiti jabuke od ove fitopatogene gljive.

### MATERIJAL I METODE RADA

Ogledi su izvedeni tokom 2012. godine u laboratorijama Instituta za zaštitu bilja i životnu sredinu. U *in vitro* uslovima ispitivana je efikasnost serije razređenja bakar-citrata sa početnom koncentracijom od 0,4%, zatim 0,2%, 0,1% i 0,01%. Za ispitivanja su korišćena 2 izolata gljive i to izolat poreklom sa voćnjaka iz lokaliteta Morović (M), u kome su sprovedene intenzivne mere zaštite i izolat sa izolovanih pojedinačnih stabala jabuke iz lokaliteta Neštin (N), gde nisu sprovedene mere zaštite. Vršena je monokonidijalna izolacija prema metodama Instituta za zaštitu bilja i životnu sredinu na KDA podlogu (Borić, 1987, Aleksić, 1996). Fragmenti micelije monokonidijalnih izolata, veličine 1 mm, uzimani su sa kolonija izolata i zasejavani u Petri kutije prečnika 5 cm na KDA hranjivu podlogu, u koju je prethodno unesena odgovarajuća količina fungicida, a zatim inkubirani u termostatu na 20°C u uslovima tame. Praćen je porast kolonija izolata *V. inaequalis*, pri čemu je za konačan porast uzet prečnik izmeren 42-og dana od dana zasejavanja (Borić, 1985, Aleksić, 2005). Ogledi su izvedeni u pet ponavljanja. Kao standard za poređenje, korišćen je preparat na bazi bakar-hidroksida. Kontrolne varijante su zasejavane na KDA podlogu bez fungicida. Obrada podataka urađena je standardnim statističkim metodama. Značajnost razlika između varijanti urađena je analizom varijanse, a za međusobno poređenje korišćeni su Dankanov test (Duncan, 1955) i LSD test.

### REZULTATI I DISKUSIJA

U ispitivanjima su korišćena 2 izolata (M, i N) *V. inaequalis* poreklom iz dva lokaliteta sa područja Srbije (Morović i Neštin). Izolati iz lokaliteta Morović uzorkovani su iz komercijalnog zasada jabuke površine 100 ha, u kome se sprovode intenzivne mere zaštite dugi niz godina. U ovom voćnjaku se koristi čitava paleta fungicida registrovana za suzbijanje prouzrokovača čađave krastavosti jabuke između ostalih i preparati na bazi bakra. Izolati iz lokaliteta Neštin su uzeti sa pojedinačnih stabala jabuke udaljenih od bilo kakvog komercijalnog zasada. Na tim stablima se ne sprovode mere zaštite

protiv prouzrokovača čađave krastavosti, pa se ovi izolati mogu smatrati divljim izolatima.

Dobijeni rezultati su pokazali da nije bilo porasta kolonija gljive izolata M, na podlogama sa koncentracijama ispitivanog preparata od 0,4%, 0,2% i 0,1%, dok je na podlogama sa koncentracijom 0,01%, registrovan srednje jak porast kolonija ovog izolata (Tabela 1, Grafikon 1). Između ispitivanih varijanti i kontrolne varijante utvrđene su statistički značajne razlike. Statistički značajna razlika utvrđena je i između varijante sa najnižom koncentracijom ispitivanog preparata (0.01%) i ostalih varijanti preparata (0.1%, 0.2% i 0.4%).

Kod drugog ispitivanog Izolata (N), nije bilo porasta kolonija na podlogama sa koncentracijama ispitivanog preparata od 0,4% i 0,2%, dok je na podlogama sa koncentracijom 0,1 i 0,01%, registrovan srednje jak porast kolonija (Tabela 2, Grafikon 2). Između ispitivanih varijanti i kontrolne varijante utvrđene su statistički značajne razlike. Statistički značajna razlika utvrđena je i između varijanti sa nižom koncentracijom ispitivanog preparata (0.01% i 0.1%) i ostalih varijanti, sa višom koncentracijom preparata (0.2% i 0.4%).

U varijantama sa standardnim preparatom ( $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ), kod ispitivanog Izolata M, porast kolonija registrovan je na podlogama sa svim koncentracijama ispitivanog preparata od 0,4% do 0,01%. Na podlogama sa koncentracijom 0,4 i 0,2% registrovan je slab porast kolonija, dok je na podlogama sa koncentracijama 0,1 i 0,01%, registrovan srednje jak porast kolonija (Tabela 3, Grafikon 3). Između ispitivanih varijanti i kontrolne varijante utvrđene su statistički značajne razlike, dok između varijanti sa različitim koncentracijama bakar hidroksida nije bilo statistički značajnih razlika.

U varijantama sa standardnim preparatom ( $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ), kod ispitivanog Izolata N, porast kolonija registrovan je, takođe, na podlogama sa svim koncentracijama ispitivanog preparata od 0,4% do 0,01%. Na podlogama sa koncentracijom 0,4 i 0,2% registrovan je slab porast kolonija, dok je na podlogama sa koncentracijama 0,1 i 0,01%, registrovan jak porast kolonija (Tabela 4, Grafikon 4). Statistički značajne razlike utvrđene su između varijanti sa koncentracijama 0,4 i 0,2% i ostalih varijanti (0,1 i 0,01% i kontrola).

Registrovani porast kolonija na podlogama u koje je unesen bakar-citrat u koncentracijama 0,01% može se okarakterisati kao srednje jak, dok na podlogama sa koncentracijom 0,1 kod izolata M nije registrovan porast kolonija, a kod izolata N registrovan je srednje jak porast kolonija gljive. Kod varijanti sa standardnim preparatom (bakar-hidroksid), regi-

**Tabela 1.** *V. inaequalis* - porast kolonija izolata M na podlozi sa bakar-citratom.  
**Table 1.** *V. inaequalis* - colony growth of the M isolate on media with copper citrate.

Izolat M Konc. (%)	Ponavljjanja					Ms*	
	A	B	C	D	E		
0.01	++	++	+	++	+	++	b
0.1	-	-	-	-	-	-	a
0.2	-	-	-	-	-	-	a
0.4	-	-	-	-	-	-	a
Kontrola	+++	+++	+++	+++	+++	+++	c

Napomena:  $LSD_{0.01} = 0.45$ ; \*Vrednosti obeležene istim slovima ne razlikuju se statistički značajno; Ms\* - srednja vrednost;

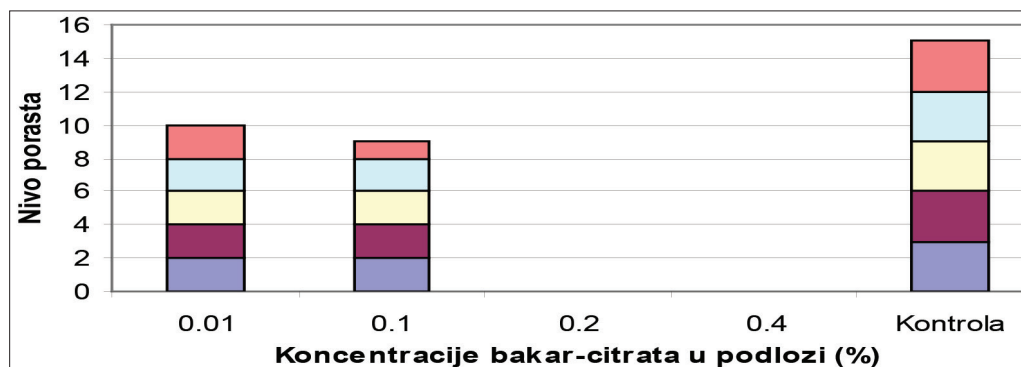


**Grafikon 1.** *V. inaequalis* - porast kolonija izolata M na podlozi sa bakar-citratom.  
**Graph 1.** *V. inaequalis* - colony growth of the M isolate on media with copper citrate.

**Tabela 2.** *V. inaequalis* - porast kolonija izolata N na podlozi sa bakar-citratom.  
**Table 2.** *V. inaequalis* - colony growth of the N isolate on media with copper citrate.

Izolat N Konc. (%)	Ponavljjanja					Ms*	
	A	B	C	D	E		
0.01	++	++	++	++	++	++	b
0.1	++	++	++	++	+	++	b
0.2	-	-	-	-	-	-	a
0.4	-	-	-	-	-	-	a
Kontrola	+++	+++	+++	+++	+++	+++	c

Napomena:  $LSD_{0.01} = 0.37$ ; \*Vrednosti obeležene istim slovima ne razlikuju se statistički značajno; Ms\* - srednja vrednost;

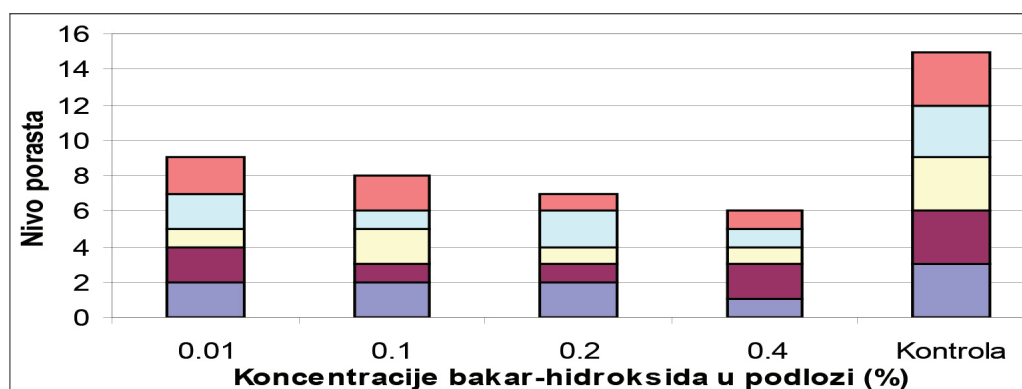


**Grafikon 2.** *V. inaequalis* - porast kolonija izolata N na podlozi sa bakar-citratom.  
**Graph 2.** *V. inaequalis* - colony growth of the N isolate on media with copper citrate.

**Tabela 3.** *V. inaequalis* - porast kolonija izolata M na podlozi sa bakar-hidroksidom.  
**Table 3.** *V. inaequalis* - colony growth of the M isolate on media with copper hydroxide.

Izolat M Konc. (%)	Ponavljjanja					Ms*	
	A	B	C	D	E		
0.01	++	++	+	++	++	++	a
0.1	++	+	++	+	++	++	a
0.2	++	+	+	++	+	+	a
0.4	+	++	+	+	+	+	a
Kontrola	+++	+++	+++	+++	+++	+++	b

Napomena:  $LSD_{0.01} = 0.88$ ; \*Vrednosti obeležene istim slovima ne razlikuju se statistički značajno; Ms\* - srednja vrednost;

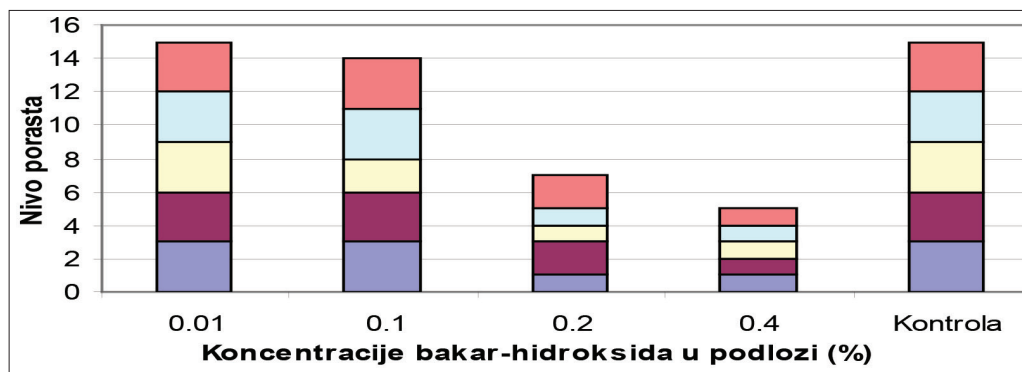


**Grafikon 3.** *V. inaequalis* - porast kolonija izolata M na podlozi sa bakar-hidroksidom.  
**Graph 3.** *V. inaequalis* - colony growth of the M isolate on media with copper hydroxide.

**Tabela 4.** *V. inaequalis* - porast kolonija izolata N na podlozi sa bakar-hidroksidom.  
**Table 4.** *V. inaequalis* - colony growth of the N isolate on media with copper hydroxide.

Izolat N Konc. (%)	Ponavljjanja					Ms*	
	A	B	C	D	E		
0.01	+++	+++	+++	+++	+++	+++	b
0.1	+++	+++	++	+++	+++	+++	b
0.2	+	++	+	+	++	+	a
0.4	+	+	+	+	+	+	a
Kontrola	+++	+++	+++	+++	+++	+++	b

Napomena:  $LSD_{0.01} = 0.55$ ; \*Vrednosti obeležene istim slovima ne razlikuju se statistički značajno; Ms\* - srednja vrednost.



**Grafikon 4.** *V. inaequalis* - porast kolonija izolata N na podlozi sa bakar-hidroksidom.  
**Graph 4.** *V. inaequalis* - colony growth of the N isolate on media with copper hydroxide.

stovan je slab porast kolonija na podlogama sa koncentracijom 0,2 i 0,4%, dok je na podlogama sa nižim koncentracijama bakar-hidroksida (0,1 i 0,01%) registrovan srednje jak porast kolonija izolata M i jak porast kolonija izolata N. Na podlogama bez fungicida (kontrolne varijante) registrovan je normalan (jak) porast kolonija gljive oba izolata. Iz dobijenih rezultata može se zaključiti da bakar citrat u znatno nižim koncentracijama primene 0,2 i 0,1% nego standardni preparat, efikasno blokira porast micelije (kolonija) fitopatogene gljive *V. inaequalis*, što je rezultat znatno veće količine bakarnih jona koje ovo jedinjenje oslobađa. Standardni preparat bakar hidroksid nije inhibirao porast kolonija gljive ni u najvećoj primenjenoj koncentraciji od 0,4%. Ovi rezultati slažu se sa rezultatima koje su saopštili Popović i sar. (2012), koji su ispitujući uticaj bakar-citrata i više drugih fungicida na bazi bakra, utvrdili znatno viši stepen inhibicije porasta kolonija gljive *Monilinia laxa* koju je ostvario bakar-citrat u odnosu na druge ispitivane fungicide na bazi bakra u komercijalnoj primeni.

Balaž i sar. (2010) su u ispitivanjima mogućnosti suzbijanja *V. inaequalis* na jabuci (ajdared) ekološki prihvatljivim preparatima (neorganski fungicidi i kisela glina) tokom 2009. i 2010. godine utvrdili visoku efikasnost preparata na bazi bakra primenjenih u niskim koncentracijama (0,05%) u suzbijanju *V. inaequalis* na listovima (87,4-99,7%), dok je efikasnost bakarnih preparata na plodovima bila različita (48,5-90,2%). Autori navode da u sistemu organske proizvodnje, program zaštite jabuke od *V. inaequalis* tokom vegetacije treba dopuniti korišćenjem preparata na bazi bakra u niskoj koncentraciji.

Kurnik i sar. (2011) su, u cilju poređenja efikasnosti nekoliko formulacija bakra sa kontaktnim i sistemčnim delovanjem protiv prouzrokovala čađave krastavosti jabuke, obavili trogodišnje oglede u

plantažnim zasadima jabuke. Testirane formulacije bile su na bazi bakar-kalcijum oksihlorida, bakar sulfata i kompleksa ili helata bakra sa aminokiselinama, peptidima, EDTA, urea, kaprilne i glukonske kiseline u cilju utvrđivanja da li će formulacije bakra sa sistemčnim delovanje omogućiti viši nivo biološke efikasnosti u suzbijanju čađave krastavosti od tradicionalnih formulacija bakra sa kontaktnim delovanjem. Nisu utvrđene statistički značajne razlike u efikasnosti, mada je utvrđena neznatno viša efikasnost bakarnih formulacija sa sistemčnim delovanjem. Sve testirane formulacije bakra su pokazale malo niži nivo efikasnosti u suzbijanju čađave krastavosti nego konvencionalni fungicidi i preparati korišćeni u sistemu organske proizvodnje te kao takve mogu biti preporučene za suzbijanje proizrokovala čađave krastavosti jabuke.

Postojeći nivo primene bakarnih preparata mora biti značajno smanjen. Neke evropske zemlje su već odlučile da zabrane sve proizvode na bazi bakra, dok su druge odlučile da znatno smanje njihovo korišćenje. Značajna redukcija korišćenja bakarnih proizvoda može biti ostvarena delimičnom zamenom bakarnih preparata drugim aktivnim supstancama, smanjenjem broja aplikacija tokom godine ili smanjenjem količine primene bakra po jedinici površine (Jama and Lateur, 2007). Primena bakar-citrata kao kompleksnog jedinjenja bakra koje se odlikuje višim stepenom disocijacije u odnosu na druga bakarna jedinjenja koja su trenutno u primeni i mogućnost njegovog korišćenja u nižim koncentracijama za suzbijanje biljnih patogena je novi potencijalni prilog pomenutim nastojanjima.

#### ZAHVALNICA

Rad je realizovan u okviru projekta TR31018, Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

#### LITERATURA

- Aleksić, G. (1996): Karakteristike razvoja *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter (anamorf *Spilosea pomi* Fr.) *in vitro*. Magistarski rad, 1-68, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu.
- Aleksić G., Stojanović S., Starović Mira, Kuzmanović S., Trkulja N. (2005): Porast i sporulisanje kolonija *Venturia inaequalis* na različitim temperaturama i podlogama. *Zaštita bilja*, vol. 56(1-4), No 251-254: 77-86.
- Balaž J. Aćimović S., Aleksić G., Bodroža M., Cvetković B. (2010): Ispitivanje mogućnosti suzbijanja *Venturia inaequalis* ekološki prihvatljivim preparatima. *Pestic. fitomed.*, 25(4): 335-342.
- Borić, B. (1985): Uticaj visokih temperatura na klijavost konidija *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter. *Zaštita bilja*, 172: 143-148.

Borić, B. (1987): Identifikacija rasa *Venturia inaequalis* u Jugoslaviji. Savetovanje o biološkoj borbi u zaštiti bilja, Beograd.

Georgopoulos, P.G., Roy, A., Yonone-Lioy, M.J., Opiekun, R.E., Lioy, P.J. (2001): Copper: Environmental dynamics and human exposure issues. Environmental and Occupational Health Sciences Institute (EOHSI), Piscataway, Cranford, NJ 07016, USA, pp. 100-215.

Ivanović, M., Ivanović, D. (2001): Mikoze i Pseudomikoze biljaka. P.P. De-eM-Ve, Beograd.

Jama, L., Lateur, M. (2007): Strategies to Reduce Copper Use in Organic Apple Production, 737: 113-120.

Kurnik, V., Gaberšek, V., Lešnik M., Kurnik, M. (2011): Comparasion of efficacy of contact and systemic acting copper formulations for control of apple scab (*Venturia inaequalis* Cooke). Agricultura 8(2): 23-30.

Martinez, A.G.(2008): Copper-BasedFungicide/Bactericide, [patentimages.storage.googleapis.com/pdfs/US20090136581.pdf](http://patentimages.storage.googleapis.com/pdfs/US20090136581.pdf)

Popović T., Milićević Z., Trkulja N., Milosavljević A., Milovanović P., Aleksić G., Ivanović Ž. (2012): Cu-citrare, a new source of Cu ion as a fungicide. Proceedings of the International Symposium: Current trends in Plant Protection, September 25-28<sup>th</sup>, Belgrade, Serbia: 363-366.

Van Zwieten, L., Merrington, G., Von Zwieten, M. (2004): Rewiew of impacts on soil biota caused by copper residues from fungicide application. Super Soil 2004: 3rd Australian New Zealand Soil Conferece, 5-9 December. University of Sydney, Australia: 1-8.

**(Primljeno: 10.11.2013.)**  
**(Prihvaćeno: 18.12.2012.)**

## INFLUENCE OF COPPER CITRATE ON COLONY GROWTH OF *VENTURIA INAEQUALIS*

GORAN ALEKSIĆ, ZORAN MILIĆEVIĆ, TATJANA POPOVIĆ, MIRA STAROVIĆ,  
SLOBODAN KUZMANOVIĆ, DOBRIVOJ POŠTIĆ, VELJKO GAVRILOVIĆ

*Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia*  
*e-mail: algoran@sezampro.rs*

### SUMMARY

Copper citrate is a complex compound of copper, which is characterized by a higher degree of dissociation in relation to the other copper compounds that are presently in the use and can be used in lower concentrations for the control of plant pathogens. Apple scab (*Venturia inaequalis*) is one of the economically most important diseases of apples in all regions where this fruit species is grown. A successful apple production is not possible without intensive chemical control. The use of copper-based products to protect apples, positioned at the start of the growing season. The earliest apple infections are the most destructive, and the effective protection of the apples in this period is very important. The aim of this study was to evaluate *in vitro* the influence of copper citrate at different concentrations applied to the growth of *V. inaequalis* colonies. The results show that copper citrate in significantly lower concentrations of application 0.2 and 0.1 % higher than the standard product, effectively inhibiting the growth of *V. inaequalis* mycelium (colony), which is the result of significantly higher amounts of copper ions, that is released from compound.

**Key words:** apple scab, copper citrate, colony growth, efficacy

(Received: 10.11.2013.)

(Accepted: 18.12.2013.)