

## МИКРОБИОЛОШКИ АНАЛИЗИ НА ПРЕПАРАТОТ АГАТ-25 К

Искра Христовска<sup>1</sup>, Југослав Зибероски<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научен институт за тутун - Прилеп

<sup>2</sup>Факултет за земјоделски науки и храна-Скопје

### ВОВЕД

Денес се повеќе се зборува за здрава храна и за органско производство на земјоделските култури, кои се неопходни за здравјето на луѓето. Органското производство подразбира одгледување на растенија без употреба на хемиски заштитни средства и вештачки губриња или нивна строго контролирана примена, во минимални дози и што помал број на третирања. Така би се избегнала опасноста од штетни резидуи од пестициди во земјоделските култури. Оттука и големиот интерес за биолошките препарати во заштитата од болести и штетници.

Предмет на нашите испитувања беше

биопрепаратор Агат 25-К, неговата примена и ефикасност, и за таа цел беше извршена негова лабораториска анализа.

При одгледувањето на тутунот, неопходно е да се изврши заштита на културата од напад на многу болести, плевели, инсекти и други штетници, поради најчестото монокултурно одгледување.

Со примена на биолошката борба во заштитата на тутунот, како и кај другите растенија, би можеле да ја намалиме падури и да ја избегнеме примената на хемиски заштитни средства. Така, испитувањата во оваа област се многу интересни и корисни.

### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Во текот на 2005 и 2006 година вршени се теренски и лабораториски микробиолошки испитувања со цел да се согледа ефикас-

носта на биолошкиот препарат АГАТ 25-К, како биостимулатор, и неговото дејство врз различни заболувања.

#### Лабораториски испитувања

Испитуваниот биолошки фунгицид се аплицираше во две дози ( $0,05 \text{ g/m}^2$  и  $0,5 \text{ g/m}^2$ ), со цел да се оцени неговото дејство врз патогените габи и притоа да се одбере најниската задоволителна доза, која ќе ги сузбие патогените габи. Двете дози од биолошкиот препарат АГАТ 25-К претставуваат две варијанти.

Кај биофунгицидот АГАТ-25K како активна материја се јавува мешавина на повеќе видови бактерии од родот *Pseudomonas*, формулиран во облик на темно обоена течна паста. Во неговиот состав се наоѓа главно бактеријата *Pseudomonas aureofaciens*. Освен неговото фунгицидно дејство, препаратор има и регулаторно дејство - го стимулира порастот на кореновиот систем.

Овој биопрепаратор се употребува и како биоѓубре, затоа што во својот состав содржи биолошки активни супстанци и имуно-гени од растително потекло, добро избалансирана

группа на почетни дози од 13 микроелементи (B, Cu, Zn, Fe, Mo, Mn, Mg, S, Cl, Ni, J, Sc, Co), 3 макроелементи (N, P, K), групи на неактивирани бактериски соеви на *Pseudomonas spp.*, флавонски состојки кои придонесуваат за создавање и развиток на корисни микробни заедници во почвата и активни фракции на четинарски смоли за директна биоконтрола на растителни патогени.

Лабораториските анализи се изведуваа со хранлива подлога од малт агар, како најсоодветна за развој на различни патогени. Хранливата подлога изобилува со витамини и минерали, неопходни за развој на различните габи и бактерии. Подготвената хранлива подлога ја излевавме во петриеви чаши и врз подлогата во која беше инкорпориран биопрепаратор АГАТ 25-K засевавме различни патогени микроорганизми, причинители на различни заболувања. Секој причинител го засевавме

во 10 петриеви чаши. Дејството на биопрепаратор АГАТ 25-К беше испитувано на 27 различни заболувања кај различни земјоделски растенија, вклучувајќи го и тутунот. Беа анализирани 27 различни габи и бактерии, а испитувањата ги опфатија следниве причинители на болести: *Phytophthora infestans*, *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*, *Alternaria tenneus*, *Alternaria longipes*, *Alternaria solani*, *Claviceps purpurea*, *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium solani*, *Fusarium lycopersicum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium spp.*, *Monilia fructigena*, *Botrytis cinerea*, *Bipolaris sorokiniana*, *Dreschslera avenae*, *Ustilago tritici*, *Ustilago nuda*, *Ustilago avenae*, *Tileia tritici*, *Puccinia recondita*,

*Erysiphe graminis*, *Septoria tritici*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora*, *Monilia candida*, *Monilia vini*, *Staphylococcus luteum*. По засејувањето на материјалот, петриевите чаши беа поставени во термостат на температура од 22 °C. Со тоа обезбедивме оптимални услови за развој на причинителите на заболувањата. Цело време вршевме мониторинг врз материјалот и по 14 дена извршвме оценување на ефикасноста на биолошкиот препаратор АГАТ 25-К. Постапката ја повторувавме 5 пати во текот на годината, а испитувањата беа вршени во текот на две години. На крајот ги прикажавме сумарните резултати.

### Теренски испитувања

Фитостимулативното дејство на препараторот АГАТ 25-К го испитувавме со тоа што го следевме развојот на два тутунски насада, поставени во с. Банско, во струмичкиот регион. Кај двата насада беше користена стандардна агротехника. Кај едниот насад имаше употреба на овој препарат, а кај вториот немаше. Останатите услови на одгледување на тутунските растенија кај двата насада беа идентични. На крајот на вегетацијата ги споредивме податоците за нивниот принос.

Препараторот АГАТ-25K не е фитотоксичен ако се употребува во препорачаните дози.

Паралелно со лабораториските, вршевме и испитувања на терен, со цел да го испитаме фитостимулативното дејство на овој биопрепарат. Третирањето на тутунските насади се вршеше 3 пати во текот на вегетациониот период.

Интервалите на примена беа 10-15 дена. Имавме две варијанти: контролна - нетретирана, и варијанта 1 која се третираше со биофунгицидот АГАТ-25K. Тутунските насади беа поставени на површина на која во изминатиот период немаше значајна појава на некоја болест. Тоа беше од причина што сакавме да го регистрираме фитостимулативното, а на фунгицидното дејство.

Мониторинг на опитите се вршеше во текот на целиот вегетационен период, при што се следеше дејството на применетиот биофунгицид и се вршеше споредба на резултатите со оние од контролната варијанта.

Споредбата беше можна поради тоа што тутунските растенија се одгледуваа под еднакви агроклиматски услови. Го следевме биостимулативното дејство на препараторот АГАТ 25-К. Ако се има предвид дека станува збор за биофунгицид од кој почвата и растенијата имаат голем бенефит како биогубре и како фунгицид, логично е да заклучиме дека АГАТ-25K претставува многу солидно заштитно и стимулативно средство.

Овој биофунгицид, за разлика од другите фунгициди не навлегува во растенијата, што значи од него не остануваат никакви резидуи. АГАТ-25K не остава штетни последици во екосистемот и во почвата се деградира за 10 часа. Не е отровен за рибите, топлокрвните организми и корисните инсекти.

Со помош на овој биофунгицид се градат корисни микробиолошки, симбиотски, почвени заедници. Истиот влијае врз зголемувањето на нивната микробиолошка активност и ја подобрува активноста на почвената микрофлора.

### РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

#### Лабораториски анализи

Во текот на лабораториските испитувања беа направени сите неопходни микробиолошки анализи и антимикробни биотестови за микробицидното дејство на препараторот АГАТ-25K. Тестовите ги направивме во микробиолошката лабораторија на Факултетот за земјоделски науки и храна. Биотестот е направен на сите можни

изолирани заболувања кај растенијата (габни и бактериски), за да се види влијанието на АГАТ-25K врз причинителите на заболувања, врз кои се смета дека овој препаратор делува антимикробно.

Целта на анализите беше да се утврди антимикробниот спектар врз фитопатогените габи и бактерии, за да може овој препаратор да

се користи како биолошко заштитно средство во замена на хемиските препарати.

Биопрепаратот АГАТ-25К претставува мешавина на неколку видови бактерии од родот *Pseudomonas*, која овозможува во микробната маса што ја продуцираат овие микроорганизми да се синтетизираат повеќе биосоединенија.

Преку фракционен колектор по методата IR SPEKOL издвоени се 10 биосоединенија, кои не се детерминирани.

Оттука произлегува дека овој биопрепарат има 10 соединенија од бактериско потекло.

Бактериите се чиста култура од родот *Pseudomonas*, но од повеќе видови од овој род, заради што и произведува повеќе биосоединенија, па биопрепаратот АГАТ-25К, благодарение на овие биосоединенија, има широк спектар на дејство. Најзастапен вид од родот *Pseudomonas* во овој биопре-

парат е *Pseudomonas aureofaciens*. Тоа се бактерии кои се доведени до инактивација, па затоа и рокот на траење на овој препарат е помал, затоа што се работи за биолошки жив организам.

Овој биофунгицид има и регулаторна активност, т.е. го стимулира порастот на кореновиот систем на растенијата и образувањето на вторичните коренчиња, а го поттикнува и дејството на полезните микробни заедници на кореновиот систем и ја стимулира индукцијата на имуните процеси во растителните организми.

АГАТ-25К може да се користи за заштита на растенијата од повеќе габни и бактериски заболувања.

Врз основа на биотестот, каде е испитувано неговото влијание врз повеќе заболувања на растенијата, добиени се следниве резултати:

Табела 1. Антимикробен ефект на АГАТ-25К  
Table 1 Antimicrobial effects of AGAT-25K

Испитувани болести кај растенијата Plant diseases	Употребена количина на АГАТ -25К Applied rate of AGAT -25K	
	0,05 g/m <sup>2</sup>	0,5 g/m <sup>2</sup>
Засеан материјал од причинителите Seeding agent	Има пораст на причинителот Increase of the agent	Нема пораст на причинителот No increase recorded
1. <i>Phytophthora infestans</i>	0	0
2. <i>Phytophthora parasitica</i> var. <i>nicotianae</i>	0	0
3. <i>Alternaria tenneus</i>	0	0
4. <i>Alternaria longipes</i>	0	0
5. <i>Alternaria solani</i>	слаб пораст - poor increase	0
6. <i>Claviceps purpurea</i>	0	0
7. <i>Rhizoctonia solani</i>	0	0
8. <i>Helmintosporium solani</i>	слаб пораст - poor increase	0
9. <i>Fusarium lycopersicum</i>	слаб пораст - poor increase	0
10. <i>Fusarium oxysporum</i>	0	0
11. <i>Fusarium</i> spp.	0	0
12. <i>Monilia fructigena</i>	слаб пораст - poor increase	0
13. <i>Botrytis cinerea</i>	слаб пораст - poor increase	0
14. <i>Bipolaris sorokiniana</i>	0	0
15. <i>Dreschslera avenae</i>	слаб пораст - poor increase	0
16. <i>Ustilago tritici</i>	0	0
17. <i>Ustilago nuda</i>	слаб пораст - poor increase	0
18. <i>Ustilago avenae</i>	слаб пораст - poor increase	0
19. <i>Tiletia tritici</i>	0	0
20. <i>Puccinia recondita</i>	слаб пораст - poor increase	0
21. <i>Erysiphe graminis</i>	0	0
22. <i>Septoria tritici</i>	слаб пораст - poor increase	0
23. <i>Erwinia amylovora</i>	слаб пораст - poor increase	0
24. <i>Erwinia carotovora</i>	слаб пораст - poor increase	0
25. <i>Monilia candida</i>	0	0
26. <i>Monilia vini</i>	0	0
27. <i>Staphylococcus luteum</i>	слаб пораст - poor increase	0

Имајќи го предвид составот на АГАТ-25К, кој во себе содржи 10 биосоединенија, а и поради тоа што во Лабораторијата имаме поголем број изолати во чиста култура - причинители на заболувања кај растенијата на кои укажува производителот на препаратор, направивме биотест и на некои други причинители на заболувања (Табела 1).

Од Табелата се гледа дека АГАТ-25К како биопрепарат може да дејствува микробицидно и на други болести кај растенијата.

Микробиолошките испитувања, како

и биолошките тестови потврдија дека АГАТ-25К покажува микробицидни ефекти во препорачаните концентрации, бидејќи концентрацијата од 0,5g/m<sup>2</sup> е слична со најниските концентрации кои ги препорачува производителот на препараторот. Оттука произлегува заклучокот дека АГАТ-25К ги исполнува условите за заштита и стимулација на растенијата.

Влијанието на овој препарат е докажано кај различни причинители на заболувања, при различни концентрации.

### Теренски испитувања

Паралелно со лабораториските испитувања, вршевме и теренски испитувања, со цел да го провериме фитостимулативното дејство на биопрепараторот АГАТ-25К кај тутун-

ските растенија. Богатиот минерален состав на микро и макроелементи укажуваше на добри резултати.

Табела 2. Влијание на биопрепараторот АГАТ-25К врз порастот и развојот на тутунот

Table 2 The effects of AGAT-25K on tobacco growth

Третирање на семе Seed treatment		Третирање на растенија Plants treatment			
g/kg	l/kg	g/m <sup>2</sup>	l/ha	Време на примена Time of application	Ефекти на примена Application effects
14	1	2x2,5	300	1- Фаза на 2 листа Two-leaf stage 2- Фаза пред цветање Preflowering stage	Зголемув. на приносот од 1000 kg/ha 1000 kg/ha yield increase

Тутунските насади беа поставени во струмичкиот реон во текот на 2005 и 2006 година. Тутунот од сортата Јака 125/3 беше засаден на парцелки кои ги третирараме со препараторот, а имавме и нетретирани парцелки кои служеа како контрола. Со АГАТ-25К ги третирараме семето и тутунските растенија, а како контрола ни служеше тутунски насад врз кого не беше извршено третирање. На крајот од вегетацијата вршевме споредба на добиените параметри од нетретираната со оние од третираната парцелка. Останатите агротехнички мерки беа стандардни и

еднакви за двета тутунски насада. Кај овие тутунски насади немаше појава на болест.

Позитивниот ефект на биопрепараторот се покажа кај третиранот тутун, во споредба со тутунот од контролата. Кај тутунот третиран со АГАТ-25К имаше зголемување на приносот за 1000 kg/ha. Споредбата е извршена помеѓу приносот на тутун на парцелите каде што се третирани тутунското семе и тутунските растенија во фаза на два листа и во фаза пред цветање, со нетретиран тутун од контролната варијанта.

## ЗАКЛУЧОЦИ

Од двегодишните испитувања извршени со полските опити и лабораториските анализи, можеме да ги донесеме следниве заклучоци:

1. Во текот на двегодишниот период се испитуванше фитостимултивното дејство на биопрепаратот АГАТ 25К кај тутунот. Испитувано е и неговото фунгицидно дејство врз 27 различни причинители на болести. Препаратот се аплицираше во две различни концентрации: 0,05 g/m<sup>2</sup> и 0,5g/m<sup>2</sup>, како две варијанти (варијанта 1 и варијанта 2), и се оценуваше неговата ефикасност.

2. Употреба на биофунгицидот АГАТ-25K во варијантата 2 покажа многу солидни резултати, со оглед на тоа што станува збор за биопрепарат. Испитуваниот фунгицид постигна висока просечна ефикасност во сузбивањето на фитопатогените габи во двете години.

3. Биопрепаратот АГАТ 25 К употребен во концентрација од 0,5 g/m<sup>2</sup> покажа фунгицидно дејство кај сите 27 испитувани патогени микроорганизми: *Phytophthora infestans*, *Phytophthora parasitica* var. *nicotiana*e, *Alternaria tenneus*, *Alternaria longipes*, *Alternaria solani*, *Claviceps purpurea*, *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium solani*, *Fusarium lycopersicum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium spp.*, *Monillia fructigena*, *Botrytis cinerea*, *Bipolaris sorokinii*,

*ana*, *Dreschslera avenae*, *Ustilago tritici*, *Ustilago nuda*, *Ustilago avenae*, *Tiletia tritici*, *Puccinia recondita*, *Erysiphe graminis*, *Septoria tritici*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora*, *Monilia candida*, *Monilia vini*, *Staphilococcus luteum*.

4. Кога беше употребен во коцентрација од 0,05 g/m<sup>2</sup>, овој биопрепарат имаше слаб пораст кај 14 причинители на болести, меѓутоа тоа е многу слаба концентрација

5. АГАТ 25K не само што не е токсичен за растенијата и не остава резидуи во почвата туку претставува извонредно биоубре, кое во својот состав има 13 микроелементи и три макроелементи, флавонски состојки и активни фракции на четинарски смоли.

6. Овој биопрепарат покажува биостимултивно дејство, а делува и како регулатор на порастот на растенијата и врши индукција на нивниот имунитет.

7. Биофунгицидот АГАТ-25K содржи повеќе видови бактерии од родот *Pseudomonas*, кои градат корисни симбиотски микробни заедници со постојната микрофлора во почвата.

8. Од целокупните наши испитувања може да се види дека примената на биофунгицидот АГАТ-25K е многу корисна не само за тутунските насади, кај кои има зголемување на приносот за 1000 kg/ha од третираните парцелки, туку и за целиот биосистем.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Blagoeva-Nikolaeva V., 1986. Reaction of some wild tobacco species to the pathogen of brown leaf spots. Bulgar Tjutjun, 31-35, p. 46-48.
2. Chang T.T., and W.H.Ko, 1990. Resistance to fungicides and antibiotics in Ph.p.: Genetic nature in hybrid determination. Phytopathology 80: 1414-1421.
3. Chang T.T. and W.H. Ko, 1993. Evidence for absence of hybridization in crosses between Ph. infestans and Ph. parasitica. Mycological research, Vol.97: 675-678.
4. Chen., L.M. Jacobson, J.Handelsman and R.M. Goodman, 1996. Compatibility of systemic acquired resistance of microbial biocontrol, for suppression of plant-disease in laboratory assay. Molecular ecology, Vol. 5: 73-80.
5. Davidse C.L., Gerritsma M.C.O., J.Idler, K.Pie and G.C.M.Velthuis, 1998. Antifungal modes of actoin of metalaxyl, cyprofuram, benalaxyl and oxadixil in phenylamide- sensitive and phenylamide - resistant strains of Ph. megasperma f.sp. medicaginis and Ph.infestans. Crop protection, Vol 7: 347-355.
6. Димеска В., 1991. Проучување на болеста кафена дамкавост кај тутунот. Тутунот/Tobacco Vol. 41, No9-10,331-340.
7. Edighton L.V.,Martin R.A.,Bruin G.C., Parsons M., 1980. Sistemic Fungicides: A Perspective After 10 Years. Plant Disease?Vol. 64 No.1, p.19-23.
8. Fravel R.D., Spurr H.W.Jr., 1989. Biocontrol of Tobacco Brown Spot Disease by *Bacillus cereus* subs. *Mycoides* in a Controlled Enviroment. Phytopathology 67:930-932.
9. Христовска И., 1999. Влијанието на наводнувањето врз појавата на *Phytophthora parasitica* var. *nicotiana*e и можни мерки за нејзино сузбивање. Докторска дисертација, Универзитет "Св. Климент Охридски"- Битола.

- 10. Мицковски Ј.**, 1984. Болести на тутунот. Стопански весник, Скопје.
- 11. Paunesku M., Paunesku A.D., Stefanic G.**, 1997. The role of the bacterial rhizosphere in limiting the development of pathogenic micromicetes of the roots of tobacco plants. CORESTA Meet. Agro-Phito Groups, Montrux. Post 14.
- 12. Spurr H.W.**, 1980. Introduction of microbial antagonists for the control of foliar plant pathogens. Biol. Control Crop.prod., p.323-332.
- 13. Зибероски Ј.**, 1998. Практикум по микробиологија. Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Земјоделски Факултет- Скопје.

## MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF THE PREPARATION AGAT-25 K

I. Hristovska<sup>1</sup>, J. Ziberoski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Scientific Tobacco Institute - Prilep

<sup>2</sup>Faculty of Agriculture and Food - Skopje

### SUMMARY

Results of the two-year field and laboratory investigations of biopreparation AGAT-25K are presented in this paper. Investigations were focused on its fungicidal and phytostimulatory effects and included 27 pathogenic microorganisms. The preparation was applied in two rates: 0.05 and 0.5 g/m<sup>2</sup>.

The rate of 0.5 g/m<sup>2</sup> was effective in all of the 27 microorganisms, preventing the growth of microorganisms seeded on artificial nutrient media.

Applied in a rate of 0.05 g/m<sup>2</sup>, the preparation was not effective in the control of 14 of the investigated microorganisms, but it is due to the very low rate.

In estimation of phytostimulatory effects, yield increase of over 1000 kg/ha was noticed when AGAT - 25K was applied in a rate of 5 g/m<sup>2</sup> .

#### Author's address:

Iskra Hristovska

Scientific Tobacco Institute, Prilep

Kicevski pat bb

Republic of Macedonia