



## ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ОЗОНИРОВАНИЯ ПАТОГЕНОВ КАРТОФЕЛЯ

**П. В. ШАРАВЬЕВ,**

аспирант,

**Г. В. ЗУЕВА,**

кандидат биологических наук, доцент,

**О. П. НЕВЕРОВА,**

кандидат биологических наук, доцент, Уральский государственный аграрный университет

(620075, г. Екатеринбург, ул. К. Либкнехта, д. 42; тел.: 8 (343) 371-33-63)

**Ключевые слова:** озон, озонирование, фитопатогены, споры, гифы, онтогенез, инокуляция.

Представлены экспериментальные данные по технологии озонирования картофеля. Выявленные фитопатогены картофеля в помещениях хранения (*Phytophthora infestans*, *Cercospora concors*, *Alternaria solani*, *Spongospora, subterranean*, *Helminthosporium solani*, *Verticillium alboatum*, *Fusarium oxysporum*) неоднозначно прореагировали на воздействие озона. Современная технология защиты картофеля от заражения его патогенами основана на использовании пестицидов без обоснования стадий развития патогена. Пикноспоры данных фитопатогенов имеют двустенную хитинизированную оболочку, вследствие этого споры теряют связь со средой обитания, поэтому не реагируют на экстремальные условия (на яды — компоненты пестицидов). Сохранение некоторых фитопатогенов картофеля (*Alternaria solani*, *Cercospora concors*, *Helminthosporium solani*) после озонирования обусловлено особенностью жизненного цикла патогенов: стадия спор устойчива к экстремальным условиям, что предопределило проведение эксперимента на выявление уязвимых стадий при воздействии озоном. При искусственной инокуляции спорами фитопатогенов растения картофеля (высечек листа) и выращивании последних в культуральной среде при оптимальных условиях для прорастания спор в аппарате «Климатостат» было выявлено, что стадия прорастания спор и развитие гиф грибов происходит в среднем через 2–3 ч. Проведенное озонирование на гифальных стадиях спор показало, что деструктивное состояние имели только гифы грибов, споры, не проросшие до озонирования, после озонирования оставались жизнеспособными вновь помещенные в оптимальные условия выращивания, проросли и образовали гифы. Микроскопирование инокулированных высечек листа картофеля и анализ стадий развития патогенов на культуральной среде (по 7 высечек в каждой из 3 чашек Петри для каждого исследованного фитопатогена) показало, что озонирование следует проводить на гифальных стадиях развития фитопатогенов.

## INNOVATIVE OZONIZATION TECHNOLOGIES OF POTATO PATHOGENS

**P. V. SHARAVIEV,**

graduate student,

**G. V. ZUEVA,**

candidate of biological sciences, associate professor,

**O. P. NEVEROVA,**

candidate of biological sciences, associate professor, Ural state agricultural university

(42 K. Libknehta Str., 620075, Ekaterinburg; tel: +7 (343) 371-33-63)

**Keywords:** ozone, ozonization, phytopathogens, disputes, hyphae, ontogenesis, inoculation.

Experimental data on potato ozonization technology are presented. The revealed potato phytopathogens in storage rooms (*Phytophthora infestans*, *Cercospora concors*, *Alternaria solani*, *Spongospora, subterranean*, *Helminthosporium solani*, *Verticillium alboatum*, *Fusarium oxysporum*) ambiguously reacted to ozone influence. The modern technology of potato protection from infection with its pathogens is based on use of pesticides without justification of pathogen development stages. Pycnosporous of these phytopathogens have a double-walled chitinous cover thereof spores lose touch with habitat therefore they don't react to extreme conditions (on poisons which are components of pesticides). Preservation of some potato phytopathogens (*Alternaria solani*, *Cercospora concors*, *Helminthosporium solani*) after ozonization, is caused by a feature of pathogen life cycle: the spores stage is steady to extreme conditions that has predetermined the experiment on identification of vulnerable stages when influenced by ozone. At an artificial inoculation by phytopathogen spores of potato plants (leaf carvings) and their cultivation in the cultural environment under optimum conditions for spore germination in Klimatostat device it was revealed that the spore germination stage and development of mushroom hyphae occurred on the average in 2–3 hours. The carried-out ozonization on the hypha and spore stages showed that hyphae of mushrooms only had a destructive state, the spores which hadn't sprouted before ozonization, after ozonization remained vital and when placed again in optimum conditions of cultivation, they sprouted and formed hyphae. Microscope of inoculated potato leaf carvings and analysis of pathogen development stages on the cultural environment (7 carvings in each of 3 Petri's cups for each studied phytopathogen) showed that ozonization should be carried out at hyphae stages of phytopathogen development.

Положительная рецензия представлена В. Ф. Гридиным, доктором сельскохозяйственных наук, старшим научным сотрудником Уральского научно-исследовательского института сельского хозяйства Россельхозакадемии.



**Цель и методика исследований.**

Картофель в России — одна из основных продовольственных и технических культур, являясь стратегической культурой, обеспечивает основы продовольственной безопасности государства. Главным показателем качества и ценности картофеля служат его химический состав: до 29 % крахмала, до 4,5 % белка, до 1 % минеральных солей, 1 % клетчатки, до 0,1 % жира, пектиновых веществ — 0,6 %, витаминов (С, В, В<sub>2</sub>, РР, К) и каротиноидов. Картофель ценен тем, что богат солями калия и фосфора и многими микроэлементами в легкоусвояемой форме, которые поддерживают щелочное равновесие в крови.

Особенность культуры картофеля — неустойчивость к погодным условиям и высокая степень поражаемости фитопатогенами. Обработка пестицидами посадочного материала и вегетирующего картофеля, проводимая многократно (до 7 обработок) в течение вегетационного периода, повышает себестоимость продукции картофеля. Поэтому площади, занятые картофелем, сокращаются, в 2012 г. в сельскохозяйственных организациях составили 230,7 тыс. га, в фермерских — 168,4 тыс. га, в хозяйствах населения — 1845 тыс. га [11]. Следовательно, снабжение товарным картофелем происходит за счет частных хозяйств, в которых площадь под картофелем ежегодно остается постоянной, без плодосмена. При этом степень зараженности почв патогенами возрастает.

Использование пестицидов, особенно фунгицидов, приводит к снижению качества картофеля из-за остаточных компонентов пестицидов, которые в основном представлены соединениями первого класса опасности (мышьяк, ртуть, хлорорганика). Известно, что хлорорганические соединения потенциально мутагенны и канцерогенны.

Потенциальная урожайность сортов картофеля 30–40 т/га и выше, в России этот показатель составляет 15–20 т/га [4]. Основные причины низкой урожайности картофеля в сортовом ассортименте со сниженной устойчивостью к фитопатогенам, несовершенной технологии производства и хранения посадочного картофеля [1]. В процессе хранения картофеля в результате гидролитических процессов, обусловленных зараженностью картофеля патогенами, происходит снижение количества крахмала [12].

Объем производства и качество картофеля снижено, в связи с этим Россия вынуждена импортировать картофель из Нидерландов, Египта, Китая, Азербайджана. В 2011 г. объем импорта картофеля в Россию превысил предыдущие среднегодовые показатели в 1,5 раза [10].

Повышение посевных качеств картофеля должно быть обеспечено экологически безопасными методами обеззараживания среды хранения и среды возделывания. Таким методом в настоящее время является метод озонирования. Озонирование используют во всех средах деятельности человека.

Анализ литературных источников по озонированию не выявил разработанных методик использования озона для дезинфекции картофелехранилищ. Апробирование сконструированного нами озонатора для дезинфекции среды в картофелехранилище от фитопатогенов картофеля показало не однозначное влияние используемой нами методики озонирования на выявленные фитопатогены картофеля:

*Phytophthora infestans*, *Cercospora concors*, *Alternaria solani*, *Spongospora subterranean*, *Helminthosporium solani*, *Verticillium alboatum*, *Fusarium oxysporum*.

Известно, что разрушение клеток организмов под влиянием озона происходит за счет дезорганизации клеточной мембраны вследствие реакции озона с фосфолипидами и протеинами мембран и последующего окисления цитоплазмы клетки.

Сохранение некоторых фитопатогенов картофеля (*Alternaria solani*, *Cercospora concors*, *Helminthosporium solani*) после проверенного нами озонирования обусловлено особенностью жизненного цикла этих патогенов: спорообразование служит не только для размножения, но и для сохранения устойчивости при экстремальных факторах среды (споры выдерживают жесткий ультрафиолет, температуру кипения). Споры патогенных микромицетов имеют хитинизированную оболочку, которую может разрушить только специфический фермент — хитиназа [8, 9]. Вероятно, неповрежденные оставшиеся споры фитопатогенов картофеля обусловили развитие мицелия микромицетов в культуральной среде, что мы зафиксировали в эксперименте после озонирования.

Для выявления влияния озона на определенные стадии развития устойчивых к нему патогенов картофеля был снова поставлен эксперимент на прорастания спор *Alternaria solani*, *Cercospora concors*, *Helminthosporium solani*. Полагая, что вегетативные стадии развития данных фитопатогенов тесно связаны со средой обитания и непосредственно зависят от нее, озон как фактор среды с повышенным окислительным свойством разрушит содержимое вегетативных клеток патогена. Следовало выявить стадию развития патогена, на которую озон действует разрушающе.

Анализ литературных источников биологии развития выявленных устойчивых к озону фитопатогенов (*Cercospora concors*, *Alternaria solani*, *Helminthosporium solani*) [9, 8, 5] и способов защиты картофеля от фитопатогенов [3, 4, 7, 6] позволил сделать следующее заключение. Современная технология защиты картофеля от заражения его патогенами основана на использовании пестицидов без обоснования стадий развития патогена. Пикноспоры данных фитопатогенов имеют двустенную хитинизированную оболочку, вследствие этого споры теряют связь со средой обитания, поэтому не реагирует на экстремальные условия (на яды — компоненты пестицидов).

Современная технология возделывания картофеля с 3–7-кратной обработкой пестицидами и стимуляторами роста позволяет получить урожай (17–28 т/га) [4, 3], но не исключает сохранения патогена в стадии спор — источников последующего заражения.

Следовательно, использование пестицидов недостаточно эффективно для защиты картофеля от данных фитопатогенов. Однако негативное влияние пестицидов на почвенные микроорганизмы приводит к снижению плодородия почвы.

Известно, что заражение фитопатогенами в процессе возделывания картофеля происходит от привнесенных инфекционных зачатков (гифальных и спорных) с посадочным материалом [2, 13]. Сохранение фитопатогенов в почве, рассматриваемой как экосистемы, маловероятно из-за трофических и антагонистических взаимодействий почвенных микроорганизмов.



## Овощеводство и садоводство

Из выше изложенного следует, что для предупреждения заражения картофеля в процессе его возделывания нужно в технологию сохранения посадочного материала включить экологически и экономически эффективные способы обеззараживания.

Цель настоящего экспериментального моделирования технологии оздоровления посадочного картофеля — выявить уязвимую стадию развития фитопатогена разработанным методом озонирования.

Для установления уязвимых стадий в отогенезе гриба и защитных мероприятий против заражения растений фитопатогенами был поставлен эксперимент с искусственной инокуляцией растения пикноспорами фитопатогенов картофеля (*Cercospora concors*, *Alternaria solani*, *Helminthosporium solani*) в двух вариантах:

1. Вариант. Озонирование гриба на гифальный стадии (на стадии прорастания спор).

Для получения гифальных стадий патогенов был произведен посев пикноспор исследуемых фитопатогенов в 3 чашках Петри: для каждого вида в 3-слойном фильтре оформлены отверстия диаметром 3 см (7-отверстный на площади чашки), в которые налит картофельно-глюкозный агаровый раствор и для стимуляции прорастания спор помещены высечки листа картофеля устьицами вверх.

Инокуляция проведена 1 мл водной суспензией пикноспор фитопатогенов — в каждое отверстие (в 1 мл около  $3-4 \times 10^3$  спор (подсчитано в камере Горяева).

Чашки Петри с подготовленным материалом поместили в аппарат «Климатостат Р-1», с определенными параметрами освещения (25 Вт), температуры (22 °С), влажности (90 %) — оптимальные условия для прорастания спор микромицетов.

Известно, что в оптимальных условиях среды для прорастания спор требуется определенный период, например, для видов рода *Alternaria* на свету и при повышенной влажности — 40 мин.

Исследуемые виды фитопатогенов картофеля для прорастания пикноспор требуют повышенной влажности. Увлажненный фильтр в чашках Петри обеспечивал высокую степень влажности среды для прорастания спор.

Учитывая, что временной интервал прорастания спор у разных видов фитопатогенов различен, время прорастания и развития гифальных стадий отслеживали через следующие промежутки времени: через

1, 2, 3 ч после инокуляции методом микроскопирования. Прорастание спор и развитие гиф отмечено в среднем через 2–3 ч.

2. Вариант. Озонирование гриба на стадии пикноспор.

Известно, что период полураспада озона составляет 30–40 мин. Поэтому через час после озонирования были открыты вытяжные воздухопроводы. Чашки Петри обоих вариантах были перенесены снова в аппарат «Климатостат Р-1» в оптимальные условия для проращивания сохранившихся пикноспор, образования конидиеносцев, конидий, спор.

### Результаты исследований.

В результате микроскопирования зараженных высечек листа картофеля и анализа стадий развития патогенов на культуральной среде (по 7 высечек в каждой из 3 чашек Петри для каждого исследованного фитопатогена) было выявлено следующее:

1. в первом варианте эксперимента после озонирования гифальных стадий грибов и последующего внесения инокулированных вырезок листа картофеля в оптимальные условия большая часть, около 80 %, гиф грибов имела деструктивное состояние (деградация содержимого, деформированные стенки гифов), однако некоторые пикноспоры имели ростковые трубки до 20 %. Это можно объяснить следующим образом: существует одновременное прорастание спор как способ сохранения вида. Споры, не проросшие до озонирования, сохранились, а после озонирования при оптимальных условиях прорастали, образуя гифы гриба;

2. во втором варианте после озонирования не отмечено прорастания пикноспор, только после внесения чашек Петри снова в климатостат в оптимальные условия, наблюдали обильное прорастание спор и формирование мицелия фитопатогенов. Отмечена индивидуальная реакция на озонирование не проросших спор до озонирования. Споры с темной окраской (пигментированные), у *Alternaria solani* и *Helminthosporium solani* формировали более объемные мицелии, чем у *Cercospora concors*, то есть пигментированные пикноспоры были более устойчивы к воздействию озона.

### Выводы.

Экспериментально подтверждено, что пикноспоры изученных фитопатогенов устойчивы к воздействию озона. Озонирование следует проводить на гифальных стадиях развития фитопатогенов.

### Литература

1. Анисимов Б. В. Европейские технологии — российским картофелеводам // Картофель и овощи. 2013. № 6. С. 31.
2. Бурдакова М. В. Больные фитофторной клубни является передатчиками болезни // Вестник овощеводства и картофеля. 1941. № 2. С. 87–93.
3. Бутов А. В., Боева О. Ю. Экологически безопасный картофель // Картофель и овощи. 2013. № 5. С. 25–26.
4. Вакуленко В. В. Высокий урожай здоровых клубней с регуляторами роста от «НЭСТМ». 2013. С. 27–28.
5. Горленко М. В. Мир растений. Т. 2. М.: Просвещение, 1991. 479 с.
6. Дубинин С. В. Как получить высокий урожай картофеля // Картофель и овощи. 2013. № 2. С. 21–22.
7. Молчанова Е. Я. Сорт, технология и комплексная защита — основа высоких урожаев // Картофель и овощи. 2013. № 2. С. 21–22.
8. Новотельнова Н. С., Пыстина К. А., Голубева О. Г. Переноспорные грибы — патогены культуральных растений в СССР. Л.: Наука, 1979. 151 с.
9. Ростовцев С. Н. Фитопатология. Болезни и повреждения растений. М.: Типография императорского Московского Университета, 1908. 403 с.
10. Симаков Е. А., Анисимов Б. В., Чугунов В. С., Шашилова О. Н. Картофель России: ресурсы и ситуация на рынке // Картофель и овощи. 2013. № 3. С. 24–25.
11. Симаков Е. В. Хозяева родной земли // Картофель и овощи. 2013. № 6. С. 31.



12. Чепуштанова О. В. Интенсификация биоресурсного потенциала свиней при введении пробиотических кормовых добавок в рационы питания : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Ур. науч.-исслед. ветеринар. Ин-т РАСХН. Екатеринбург, 2010. 185 с.
13. Черемисин Н. А. Общая патология растений. М. : Высшая школа, 1973. 350 с.

**References**

1. Anisimov B. V. The European technologies for Russian potato breeders // Potatoes and vegetables. 2013. № 6. P. 31.
2. Burdakova M. V. Sick tubers // Bulletin of vegetable and potato. 1941. № 2. P. 87–93.
3. Butov A. V., Boeva O. Yu. Environment-friendly potatoes // Potatoes and vegetables. 2013. № 5. P. 25–26.
4. Vakulenko V. V. Big crop of healthy tubers with growth regulators from “NEST M”. 2013. P. 27–28.
5. Gorlenko M. V. Flora. Vol. 2. M. : Prosvescheniye, 1991. 479 p.
6. Dubinin S. V. How to receive a big potato yield // Potatoes and vegetables. 2013. № 2. P. 21–22.
7. Molchanova E. Ya. Sort, technology and complex protection — a basis of high yield // Potatoes and vegetables. 2013. № 2. P. 21–22.
8. Novotelnova N. S., Pystina K. A., Golubeva O. G. Peronosporales — pathogens of cultural plants in the USSR L. : Science, 1979. 151 p.
9. Rostovtsev S. N. Phytopathology. Diseases and damages of plants. M. : Printing house of imperial Moscow University, 1908. 403 p.
10. Simakov E. A. Anisimov B. V., Chugunov V. S., Shashilova O. N. Potato of Russia : resources and situation at the market // Potatoes and vegetables. 2013. № 3. P. 24–25.
11. Simakov E. V. The native landlords // Potatoes and vegetables. 2013. № 6. P. 31.
12. Чепуштанова О. В. Интенсификация биоресурсного потенциала свиней при введении пробиотических кормовых добавок в рационы питания : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Ур. науч.-исслед. ветеринар. Ин-т РАСХН. Екатеринбург, 2010. 185 с.
13. Черемисин Н. А. Общая патология растений. М. : Высшая школа, 1973. 350 с.