

На правах рукописи

ЗЕИТАР ЕЛСАЙЕД МОХАММЕД ЕЛШАХАТ ХАССАН

**ЗАЩИТА КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ ОТ ГРИБНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПРИ
ХРАНЕНИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОЧАСТИЦ ХИТОЗАНА С
ЭФИРНЫМИ МАСЛАМИ**

**Специальность: 4.1.3 - Агрохимия, агропочвоведение,
защита и карантин растений**

**Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Москва – 2025

Диссертационная работа выполнена на кафедре агротехнологий агро-биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный университет им. В. Н. Татищева»

Научный руководитель: **Сухенко Людмила Тимофеевна**, доцент, доктор биологических наук, профессор кафедры «Прикладная биология и микробиология» ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет», член экспертной комиссии РАЕ.

Официальные оппоненты: **Зейрук Владимир Николаевич**, доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник лаборатории защиты растений ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр картофеля им. А.Г. Лорха»

Смирнов Алексей Николаевич, доктор биологических наук, профессор кафедры защиты растений, сектор фитопатологии, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Прикаспийский аграрный федеральный научный центр Российской академии наук»

Защита диссертации состоится «11» ноября 2025 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета ПДС 2021.002 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН) по адресу 117198, ул. Миклухо-Маклая, д. 8 корп.2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке в УНИБЦ (Научной библиотеке) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН) по адресу: 117198 ул. Миклухо-Маклая, д. 6, и на сайте: <https://www.rudn.ru/science/dissovet>.

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат сельскохозяйственных наук

Романова Е.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Картофель является одной из основных сельскохозяйственных культур, в России его называют «вторым хлебом» (Попкова и др., 1980). Послеуборочные болезни картофеля, вызываемые фитопатогенными грибами, приводят к значительным экономическим потерям. Потери урожая при хранении картофеля достигают 15–70% (Чулкина и Трушко, 1978; Малюга, 2003). К наиболее вредоносным и распространенным заболеваниям клубней в период хранения относится сухая фузариозная гниль *Fusarium* sp. и альтернариоз *Alternaria* sp. (Малюга, 2007; Woudenberg et al., 2014). Традиционными методами защиты картофеля от этих возбудителей является применение химических фунгицидов, которые приводят к появлению резистентных штаммов грибов и наносят вред окружающей среде (Еланский, 2012; Еланский, 2018). Все это делает весьма актуальным изучение, разработку и внедрение в схеме защиты картофеля от болезней (при хранении) препаратов природного происхождения, являющихся альтернативой синтетическим.

В качестве таких препаратов могут быть эфирные масла и растительные экстракты (Calo et al., 2015). Эти экологически чистые вещества менее вредны для окружающей среды и уменьшают распространение резистентных патогенов растений (Faria Maia et al., 2015). Эфирные масла и растительные экстракты являются источниками противомикробных биологически активных веществ (БАВ), что позволяет применять их для борьбы с патогенами растений путем прямой фунгитоксической активности и индукции резистентности растений к патогенам (Rodrigues et al., 2011). Однако эфирные масла представляют собой летучие соединения, которые легко испаряются и разлагаются при хранении под воздействием высокой температуры, давления, света или кислорода.

Для повышения стабильности и биологической активности эфирных масел используется технология наноинкапсулирования, которая обеспечивает контролируемое высвобождение инкапсулированных веществ (Donsì et al., 2011). В последние годы наблюдается интерес к разработке биоразлагаемых наночастиц, чаще всего хитозана, применяя для инкапсулирования БАВ из-за его биосовместимости, низкой токсичности и способности к биологическому разложению (Harris et al., 2011; Donsì et al., 2011).

Степень разработанности темы исследования. Вопросами эффективности применения эфирных масел и растительных экстрактов в борьбе с фитопатогенами сельскохозяйственных культур занимались многие учёные такие, как Бышко и др., (2004), Мехтиева и др., (2010), Мохаммед и Мельников (2020), El-Mohamedy and Mohamed (2018), Attia et al., (2019). Так же имеются множество публикаций о том, что экстракты тополя обладают антимицробной и антифунгальной активностью в отношении патогенных бактерий и грибов

(Браславский, Куркин, 1991; Сухенко и др., 2009; Сухенко и др., 2023). Успешные результаты инкапсулирования в наночастицы хитозана были получены в отношении карвакрола (Keawchaoon and Yoksan, 2011), *Carum copticum* (Esmaeili and Asgari, 2015), эвгенола (Woranuch and Yoksan, 2013), орегано (Hosseini et al., 2013). Однако, многие аспекты остаются неизученными, так недостаточно сведений об использовании технологии нанокапсулирования эфирных масел, или применении экстракта почек тополя черного для борьбы с грибными патогенами сухой гнили при хранении клубней картофеля. Это определяет необходимость дальнейших научных исследований, направленных на повышение эффективности эфирных масел и растительных экстрактов и их использования в качестве альтернативы синтетическим фунгицидам для защиты клубней картофеля от послеуборочных грибных заболеваний.

Цель и задачи исследования. Цель исследований – разработка биологической защиты клубней картофеля от послеуборочных грибных заболеваний инкапсулированными нанохитозаном эфирными маслами и экстрактами.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Выявление основных видов послеуборочных грибных возбудителей сухой гнили картофеля в условиях аридного климата Астраханской области, оценка их патогенности и устойчивости к ним различных сортов;
2. Скрининг антифунгальной активности эфирных масел и экстрактов в отношении наиболее агрессивных грибных изолятов (*in vitro*);
3. Синтез и характеристика инкапсулированных эфирных масел;
4. Сравнительная оценка антифунгальной активности инкапсулированных и свободных эфирных масел (*in vitro*);
5. Оценка биологической и экономической эффективности экспериментальных препаратов против сухой гнили при хранении картофеля.

Научная новизна. Эфирные масла, инкапсулированные нанохитозаном, успешно синтезированы методом ионного гелеобразования для биологической защиты клубней картофеля от послеуборочных грибных заболеваний. Установлено, что технология наноинкапсулирования приводит к повышению биологической эффективности эфирных масел при защите картофеля от грибных болезней сухой гнили. Обнаружено, что жидкий экстракт почек тополя черного в норме расхода 400 г/т обладает высокой эффективностью в отношении возбудителей сухой гнили при хранении картофеля.

Теоретическая значимость работы. Установлено, что применение инкапсулированных эфирных растительных соединений приводит к снижению вирулентности и агрессивности возбудителей сухой гнили картофеля и повышает экономический выход сохранения продукции. Технология наноинкапсулирования эфирных масел может быть практичным и эффективным подходом к

решению некоторых теоретических проблем, таких как физическая нестабильность фитонцидов эфирных масел и повышение их биологической активности. Активные носители наноразмера эфирных фунгицидов, такие как нанохитозан, обеспечивают большую площадь поверхности и улучшить контролируемое высвобождение инкапсулированных биологически активных фунгицидных ингредиентов. Установлено также, что применение растительного препарата на основе экстрактов почек тополя черного подавляют развитие патогенов фузариоза и альтернариоза на клубнях картофеля при хранении, что является предпосылкой разработки дешевого, доступного и эффективного биологического препарата для сохранения урожайности и посевного материала. Поэтому, полученные результаты важны для теоретического понимания развития агрессивности и изменчивости возбудителя во время послеуборочной биологической защиты клубней картофеля от грибных заболеваний.

Практическая значимость. Разработанные нанопрепараты из эфирных масел чайного дерева и лаванды, инкапсулированные нанохитозаном, и экстракт почек тополя черного использовались в фермерских хозяйствах «КФХ Джаваров Н. В.», и «КФХ Ануфриев Е. А.» Астраханской области. При этом уменьшилась распространенность болезней и степень поражения урожая клубней картофеля болезнями сухой гнили, что способствовало сохранению урожая картофеля, снижению пестицидной нагрузки, получению экологически безопасной продукции, увеличению рентабельности применения в сравнении с использованием свободных масел.

Методология и методы исследований основывались на проведении анализа литературы отечественных и зарубежных авторов по применению природных веществ, биологии и экологии фитопатогенов на картофель при хранении. Применялись следующие методы исследований: лабораторные и при хранении исследования - эмпирические и теоретические, обработка результатов исследований методами статистического анализа

Положения, выносимые на защиту:

- Антифунгальная активность эфирных масел чайного дерева, лаванды, моринги, экстракта почек тополя черного в отношении возбудителей болезней клубней картофеля *Fusarium sambucinum* и *Alternaria alternata*.
- Синтез и характеристика инкапсулированных эфирных масел чайного дерева и лаванды;
- Биологическая и экономическая эффективность инкапсулированных эфирных масел чайного дерева и лаванды, и экстракта почек тополя черного в сравнении со свободными эфирными маслами при защите картофеля от грибных болезней при хранении.

Апробация работы. Результаты исследований были представлены и обсуждены на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биоразнообразия и биотехнологии», (Астрахань, 2021), II Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биоразнообразия и биотехнологии», (Астрахань, 2023) , XIII «Международной научно-практической конференции, наука и образование в современном мире: вызовы XXI века», (Астана, Казахстан, 2023).

Степень достоверности. Достоверность выводов и заключений по теме диссертации подтверждается результатами достаточного объема полученных экспериментальных данных научной работы, выполненной в строгом соответствии с основными методиками и требуемым объёмом результатов научных исследований, достоверностью статистической обработки данных с выявлением достоверности различий и положительными результатами производственной проверки.

Публикации результатов исследований. По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе: 4 статьи в рецензируемых изданиях, включенных в перечне ВАК и РУДН, 2 статьи в изданиях, индексированных в международных базах данных CAS, 5 статей в материалах конференций и других журналах.

Личный вклад автора заключается в проведении экспериментов, обработке и интерпретации полученных данных, подготовке материалов научных публикаций и написании диссертационной работы. Доля личного участия составляет не менее 90%.

Структура и объем работы. Диссертация, состоит из введения, 3 глав, выводов, рекомендаций производству, списка литературы и приложений. Содержание работы изложено на 153 страницах стандартного компьютерного текста, содержит 34 рисунка, 18 таблиц, и 3 приложений. Список использованной литературы состоит из 316 источников, в том числе 271 иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

В главе проанализированы данные литературы по оценке послеуборочных болезней картофеля и вызванных ими экономических потерях. Анализ литературных данных свидетельствует о необходимости совершенствования приемов защиты с целью повышения сохранности урожая послеуборочного картофеля в регионах с аридным климатом от сухой гнили.

Глава 2. УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились в лаборатории «Биотехнология, микробиология и почвоведение» кафедры биотехнологии, аквакультуры, почвоведения и управления земельными ресурсами агро-биологического факультета Астраханского государственного университета имени В. Н. Татищева, в «КФХ Джафаров Нажмудин Вагидович» (Лиманский район, Астраханской области). Собирали образцы клубней картофеля, выращенного при естественном заражении на полях в разных районах Астраханской области (Лиманский район, Харабалинский район, Приволжский район и Камызякский район).

Объектами изучения служили клубни картофеля сортов Ривьера, Ред скарлет, гала и Аризона. В исследованиях использовали грибные изоляты *Fusarium sambucinum*, *Alternaria alternata*, и *Rhizoctonia* sp. которые были выделены из пораженных клубней картофеля в условиях Астраханской области с аридным климатом и поддерживали на искусственной питательной среде картофельно-декстрозный агар (КДА), и пересевали каждые 3 недели.

Для определения агрессивности грибных изолятов, и оценки устойчивости разных сортов картофеля был использован метод искусственного заражения и наблюдения степени развития болезни по Г.Т. Бебре (1988) и в соответствии с методами экспериментальной микологии (1982)

В качестве антифунгальных соединений изучали эфирные масла чайного дерева *Melaleuca alternifolia*, моринги *Moringa oleifera* и лаванды *Lavandula angustifolia*, экстракт почек тополя черного *Populus nigra*, и хитозан с молекулярной массой 150 кДа, и степенью деацетилирования 85%.

Для идентификации выделенных штаммов грибов были изучены морфологические и культуральные свойства. Видовую принадлежность грибов определяли с помощью определителей грибов (Gams and Booth, 1977; Gerlach and Nirenberg, 1982; Nelson et al., 1983; Leslie and Summerell, 2008; Borca and Carmen, 2013; Simmons, 1999). Наиболее агрессивные штаммы были подтверждены молекулярно-генетическими методами с помощью амплификации и секвенирования транскрибирующих спейсеров ITS Kjer et al., (2010) для рода *Fusarium*, и *trb2* (РНК-полимераза II) Verbee et al., (1999) для рода *Alternaria*.

Для скрининга антифунгальной активности исследуемых препаратов *in vitro* был использован метод ингибирования роста мицелия и жизнеспособности спор (Baturu-Ciesniewska et al., 2015; Yikilmazsoy and Tosun, 2021).

Для синтеза нанопрепаратов эфирных масел, инкапсулированных хитозаном, был использован метод ионного гелеобразования Keawchaon and Yoksan (2011). Характеристика нанокапсул была проведена с помощью атомно-силовой микроскопии АСМ, сканирующего электронного микроскопа (СЭМ), УФ-спектрофотометра, и светорассеяния (DLS).

Биологическая и экономическая эффективность свободных и инкапсули-

рованных эфирных масел чайного дерева, лаванды и экстракта почек тополя черного была протестирована на искусственно и естественно зараженных клубнях картофеля сортов Ривьера и Гала, где определялась распространенность и степень развития болезни, и сохраненный урожай.

Статистический анализ. Полученные экспериментальные данные обработаны статистическими методами дисперсионного анализа при 95% уровне достоверности, с помощью программы Microsoft Office Excel 2016 и пакетом программ по статистике “CoStat”, версия 6,45.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Выявление основных видов послеуборочных грибных возбудителей сухой гнили картофеля, оценка их патогенности и устойчивости к ним различных сортов

В условиях аридного климата Астраханской области в качестве основных возбудителей болезни сухой гнили урожая картофеля были обнаружены *Fusarium* sp. и *Alternaria* sp., их наиболее агрессивными штаммами являются *Fusarium sambucinum* и *Alternaria alternata*. В отношении фузариоза, сорта Аризона и Ред Скарлет показали себя восприимчивыми, сорта Гала и Ривьера оказались очень восприимчивыми. В отношении альтернариоза, сорт Аризона показало себя среднеустойчивым, Сорта Ривьера, Ред Скарлет, и Гала – восприимчивыми.

3.2. Скрининг антифунгальной активности эфирных масел и экстрактов в отношении наиболее агрессивных грибных изолятов (*in vitro*)

При определении минимальной ингибирующей концентрации (МИК), при которой рост грибного мицелия (рисунок 1) и жизнеспособность спор (рисунок 2) уменьшается на 100% от контроля, установлено, что наибольшей антифунгальной активностью обладают эфирные масла чайного дерева (ЧД) и лаванды (ЛВ). МИК для масла чайного дерева 4 г/л, и для масла лаванды 10 г/л в отношении роста мицелия *Alternaria* sp. и *Fusarium* sp. (рисунок 1).

В отношении жизнеспособности спор масло чайного дерева показало МИК = 3 г/л в отношении *Alternaria* sp., и 4 г/л в отношении *Fusarium* sp. (рисунок 2). Масло лаванды полностью подавляло жизнеспособность спор *Alternaria* при МИК = 10 г/л, и *Fusarium* при 8 г/л (рисунок 2). Напротив, эфирное масло моринги показало МИК = 16 г/л (рисунок 1 и 2). Результаты *in vitro* показали, что эфирные масла чайного дерева и лаванды имеют более низкую МИК по сравнению с эфирным маслом моринги. По этой причине, для синтеза нанопрепаратов эфирных масел были выбраны масло чайного дерева и масло лаванды.

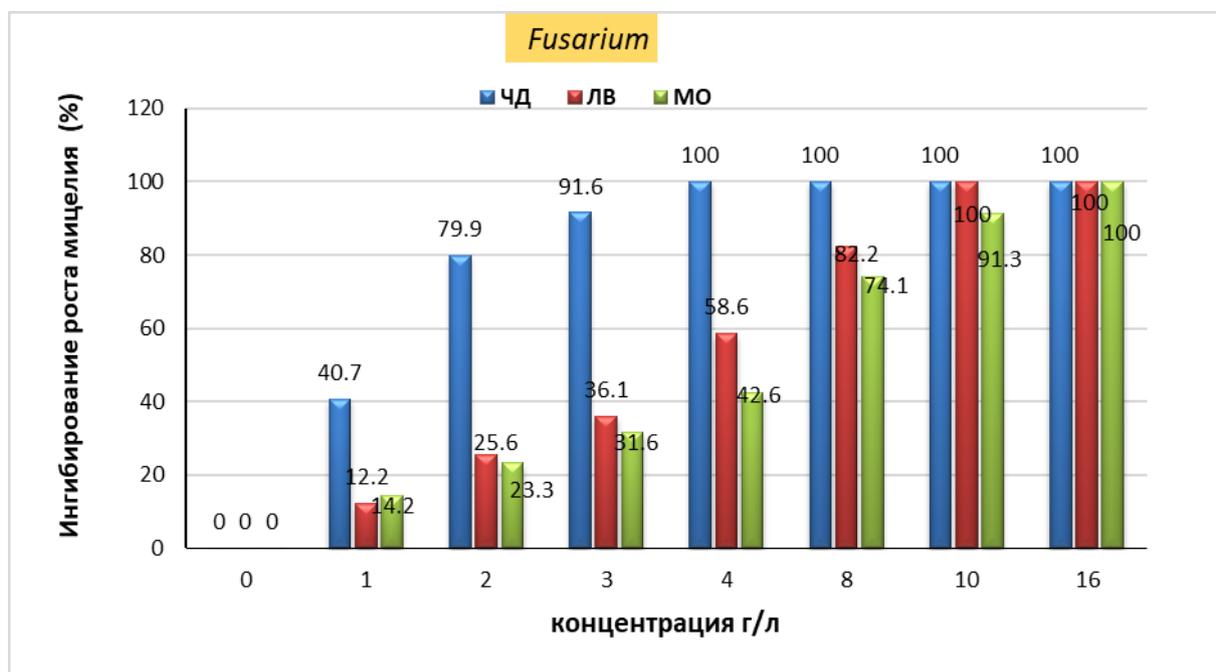
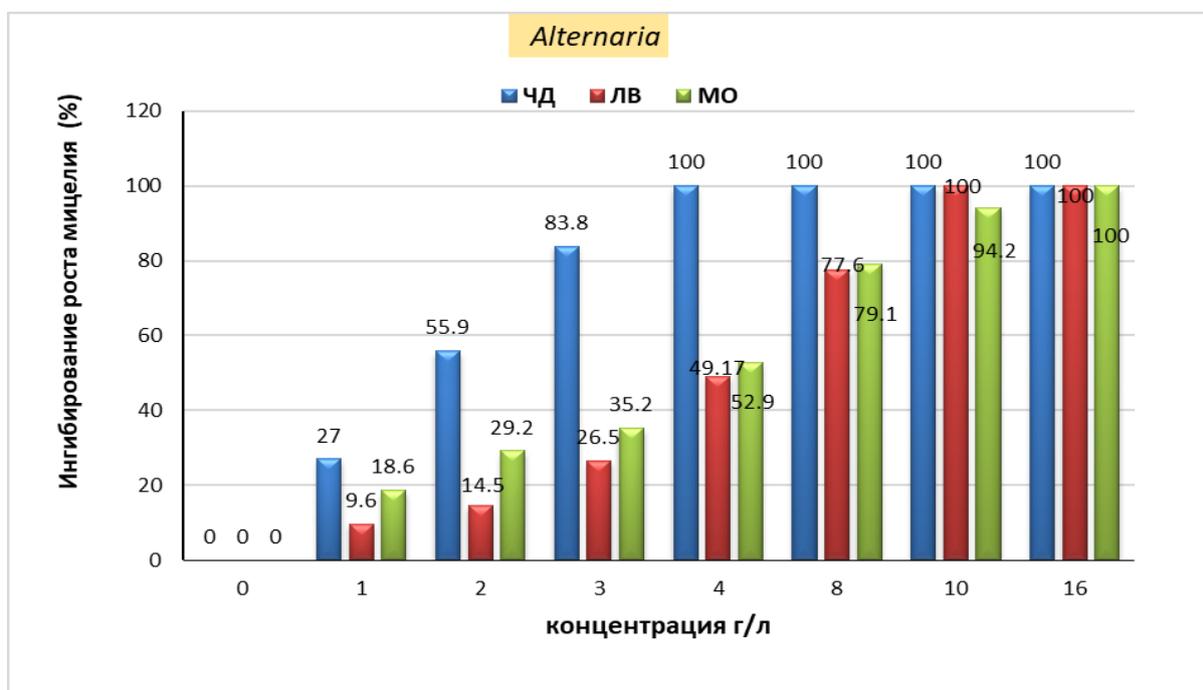


Рисунок 1- Антифунгальная активность эфирных масел в отношении роста мицелия *Alternaria* sp. и *Fusarium* sp. (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ) масло лаванды, (МО) масло моринги.

Эти результаты согласуются с результатами Martins et al., (2011), и Hendges et al., (2021), которые наблюдали полное ингибирование роста мицелия *Alternaria alternata* и *Alternaria solani* при концентрации эфирного масла чайного дерева 4000 и 4473 МКл/л, соответственно. Caprari et al., (2021) сообщили, что эфирное масло лаванды при концентрации 15 μ л *in vitro* обладает высокой противогрибковой активностью в отношении *Sclerotium rolfsii*, фитопатогенного гриба, вызывающего послеуборочные заболевания многих фруктов и овощей.

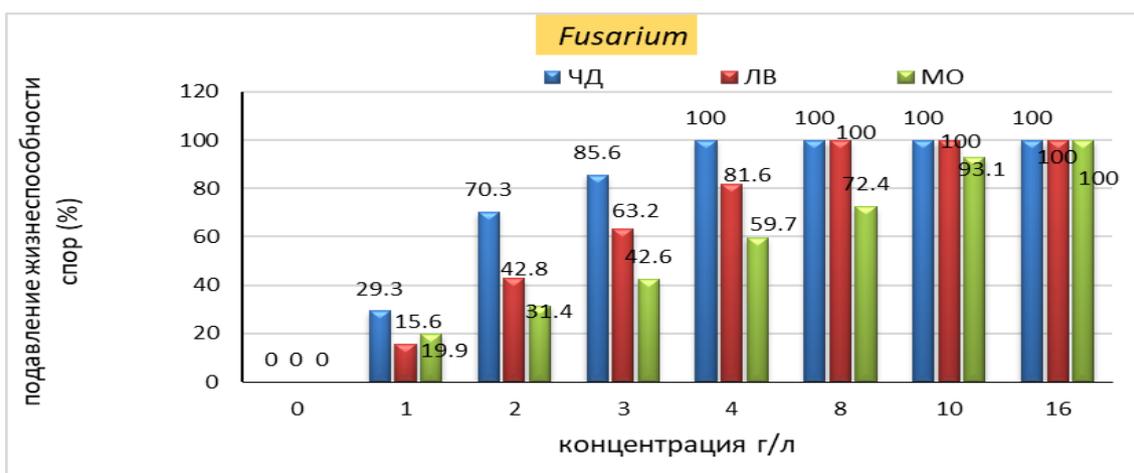
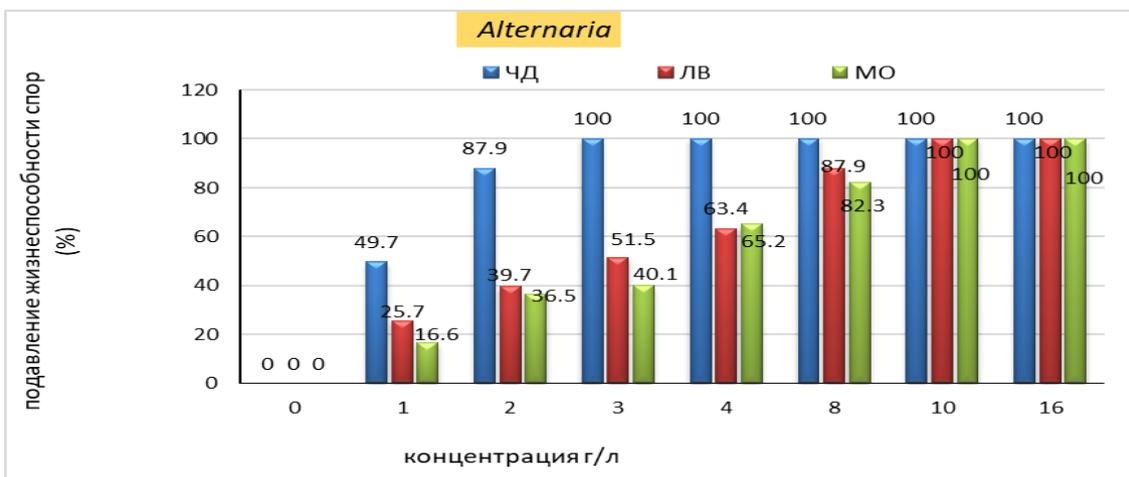


Рисунок 2- Антифунгальная активность эфирных масел в отношении жизнеспособности спор *Alternaria sp.* и *Fusarium sp.* (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ) масло лаванды, (МО) масло моринги.

Для экстракта почек тополя черного полное ингибирование грибов было обнаружено при концентрации 30 г/л в отношении *Alternaria sp.* (рисунок 3.А) и 40 г/л в отношении *Fusarium sp.* (рисунок 3.Б), соответственно.

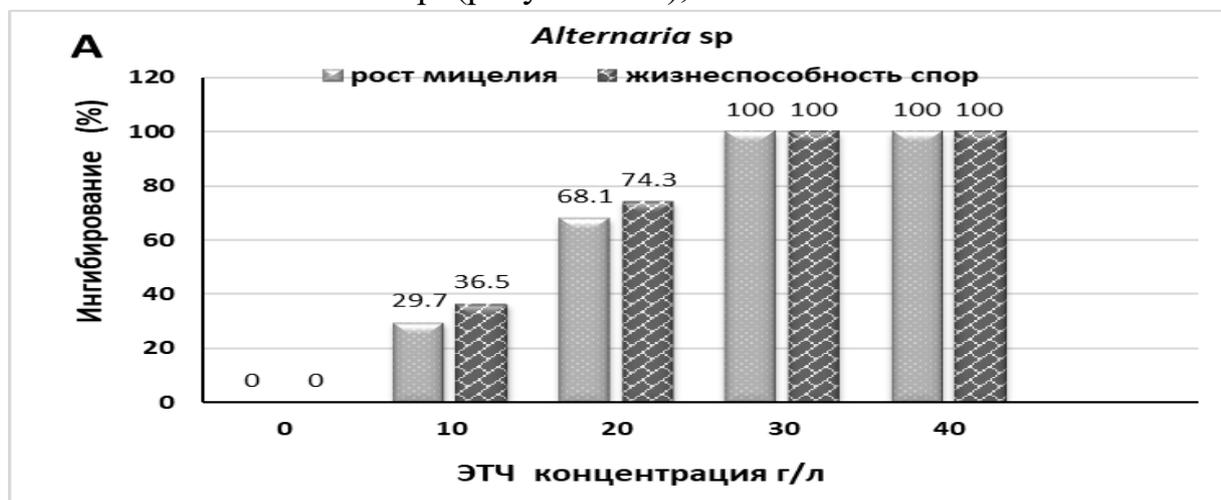


Рисунок 3.А - Антифунгальная активность экстракта почек тополя черного (ЭТЧ) в отношении роста мицелия и жизнеспособности спор *Alternaria sp.*

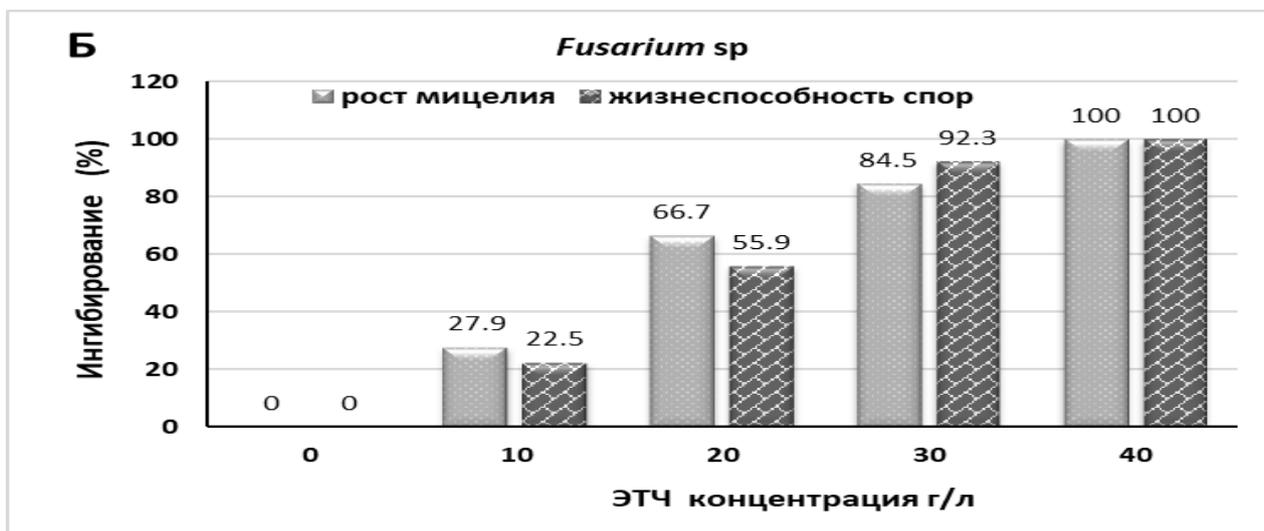


Рисунок 3.Б - Антифунгальная активность экстракта почек тополя черного (ЭТЧ) в отношении роста мицелия и жизнеспособности спор *Fusarium sp*.

3.3. Синтез и характеристика инкапсулированных эфирных масел

Визуализация с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) является эффективным методом для определения морфологии поверхности и более точного размера нанопрепаратов. АСМ-изображения демонстрируют сферическую форму и наноразмерную структуру наночастиц хитозана, а также эфирных масел инкапсулированных нанохитозаном (рисунок 4). Распределение по размерам, полученное методом АСМ, показало, что большинство наночастиц хитозана были в диапазоне от 40 до 100 нм (рисунок 4 А). Однако размеры эфирного масла чайного дерева инкапсулированного нанохитозаном были в диапазоне от 80 до 320 нм (рисунок 4 Б), и эфирного масла лаванды инкапсулированного нанохитозаном в диапазоне от 150 до 680 нм (рисунок 4 В).

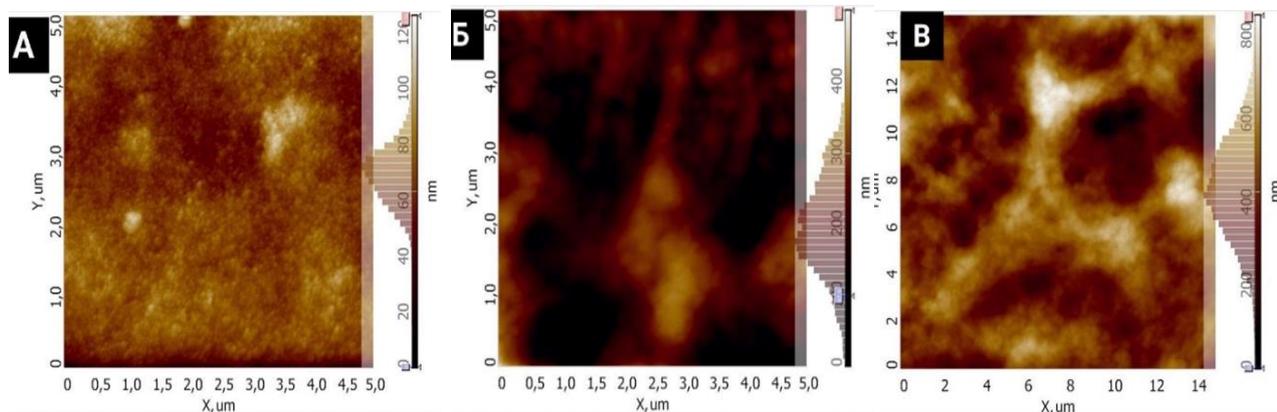


Рисунок 4 - АСМ изображения нанохитозана (А), инкапсулированное масло чайного дерева (Б), инкапсулированное масло лаванды (В).

Увеличение размера наночастиц происходило за счет встраивания (загрузки) масел в нанокapsулы хитозана, что свидетельствовало об успешности наноинкапсулирования эфирных масел. Keawchaoon and Yoksan (2011) сообщали о диапазоне размеров нанокapsул от 532,6 до 716,6 нм, когда карвакрол был ин-

капсулирован в наночастицы хитозана. Hosseini et al., (2013) сообщили, что размер нанокапсул достигалось от 309,8 до 402,2 нм, когда эфирное масло орегано было инкапсулировано в наночастицы хитозана. Сканирующая электронная микроскопия (рисунок 5) также подтвердила сферическую форму и наноразмеры синтезированных препаратов.

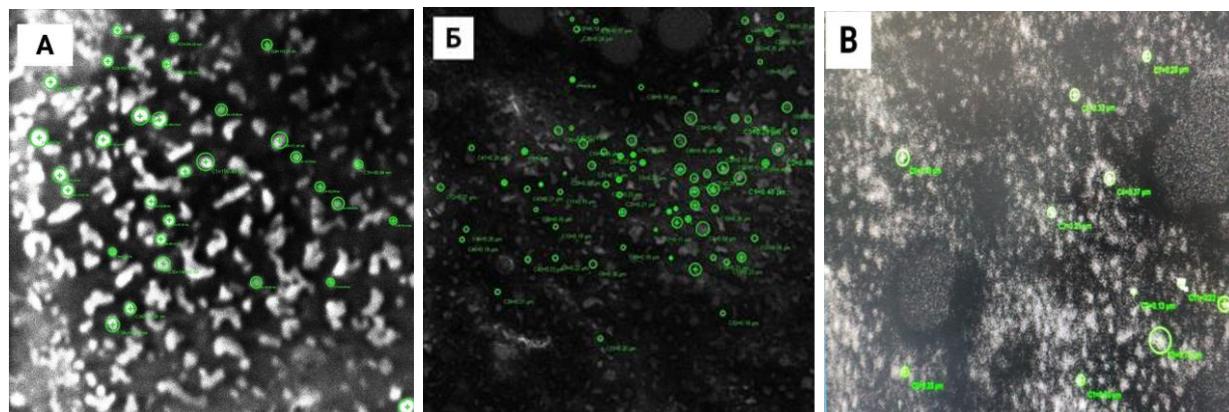


Рисунок 5 - СЭМ-изображение нанохитозана (А), инкапсулированное масло чайного дерева (Б), инкапсулированное масло лаванды (В).

Эффективность инкапсуляции (ЭИ) масла чайного дерева и лаванды была подтверждена методом УФ-спектрофотометрии, их значения варьировались от 38,25 до 89,60% (таблица 1) и 42,46–86,99% (таблица 2), соответственно. Результаты инкапсулирования обоих эфирных масел показали, что % эффективности инкапсулирования (ЭИ) увеличивался в зависимости от исходного содержания эфирных масел, достигая их максимума при соотношении хитозана: эфирного масла (1:0,50 по массе) для обоих эфирных масел, что было выбрано в качестве оптимальных соотношений для последующих исследований.

Таблица 1- Эффективность инкапсуляции (ЭИ) и дзета-потенциал инкапсулированного масла чайного дерева

Хитозан: эфирное масло массовое соотношение (вес/вес)	ЭИ (%) УФ–спектрофотометрия	дзета-потенциал (ζ) (мВ)
1:0,0	0,00 ± 0,00	+51,9±0,6
1:0,25	38,25±3,23	+40,3±0,2
1:0,50	89,60±2,71	+39,3±0,6
1:0,75	52,43±1,89	+34,5±0,1
1:1,00	43,75±3,64	+31,2±0,9
1:1,25	40,51±2,97	+29,7±0,7

Таблица 2 Эффективность инкапсуляции (ЭИ) и дзета-потенциал инкапсулированного масла лаванды

Хитозан: эфирное масло массовое соотношение (вес/вес)	ЭИ (%) УФ–спектрофотометрия	дзета-потенциал (ζ) (мВ)
1:0,0	0,00 \pm 0,00	+51,9 \pm 0,6
1:0,25	42,46 \pm 2,36	+41,1 \pm 0,7
1:0,50	86,99\pm3,56	+38,1\pm0,7
1:0,75	61,31 \pm 2,11	+33,6 \pm 0,5
1:1,00	48,54 \pm 1,98	+30,7 \pm 0,1
1:1,25	43,62 \pm 3,35	+28,1 \pm 0,6

Была проведена оценка дзета-потенциала полученных нанопрепаратов, чтобы показать влияние инкапсулирования на поверхностный заряд и стабильность синтезированных препаратов. Наночастицы хитозана показали значение дзета-потенциала +51,9 \pm 0,6 мВ (таблица 1 и 2), что указывает на положительно заряженную поверхность частиц. Что является результатом спонтанного образования нано-комплекса между хитозаном и триполифосфатом натрия (ТПФ) с общим положительным поверхностным зарядом, что согласуется с исследованиями (Nallamuthu et al., 2015). Дзета-потенциал снижался в диапазоне (от +29,9 до +40,3) и (от +28,1 до +41,1) мВ для наночастиц, содержащих эфирные масла чайного дерева и лаванды, соответственно (таблица 1 и 2). Это свидетельствовало о том, что дальнейшее добавление эфирных масел уменьшало поверхностный положительный заряд. Снижение значения дзета-потенциала может быть в некоторой степени результатом покрытия эфирным маслом поверхности наночастиц хитозана. Jang and Lee (2008), и Wu et al., (2005) сообщали, что частицы хитозан-ТПФ становились крупнее, а положительно заряженная поверхность уменьшалась при увеличении исходного содержания лекарственных средств, таких как аскорбиновая кислота и глицирризинат аммония.

3.4. Сравнительная оценка антифунгальной активности инкапсулированных и свободных эфирных масел (*in vitro*)

В результате лабораторной оценки эффективности инкапсулированных масел в сравнении со свободными эфирными маслами или чистым хитозаном было выявлено, что инкапсулированные эфирные масла при 1,0 г/л были наиболее эффективными в подавлении роста мицелия *Fusarium* (рисунок 6) и *Alternaria* (рисунок 7) где показали 100% ингибирование. При этом наиболее

активные концентрации нанохитозана, свободного масла чайного дерева и масла лаванды составляли 2,0; 4,0; 10,0 г/л соответственно.

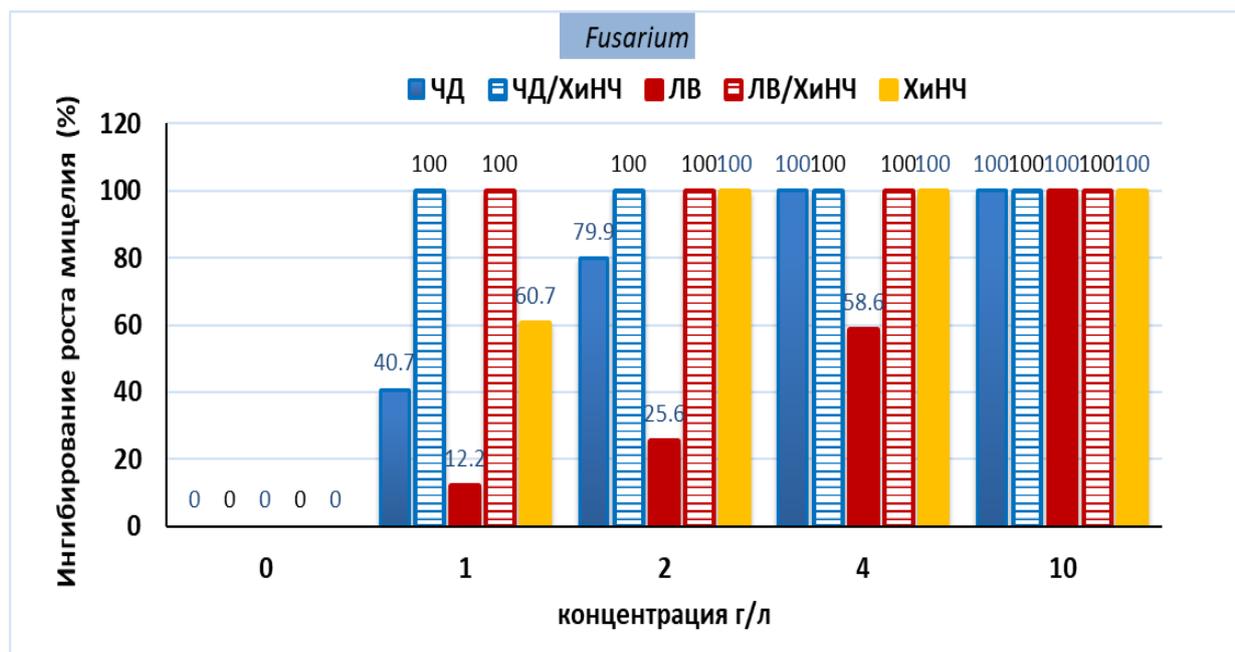


Рисунок 6 - Сравнительная антифунгальная активность свободных и инкапсулированных эфирных масел в отношении роста мицелия *Fusarium* sp. *in vitro*. (ЧД) масло чайного дерева, (ЧД/ ХиНЧ) масло чайного дерева, инкапсулированное наночастицами хитозана, (ЛВ) масло лаванды, (ЛВ/ ХиНЧ) масло лаванды инкапсулированное наночастицами хитозана (ХиНЧ) наночастицы хитозана.

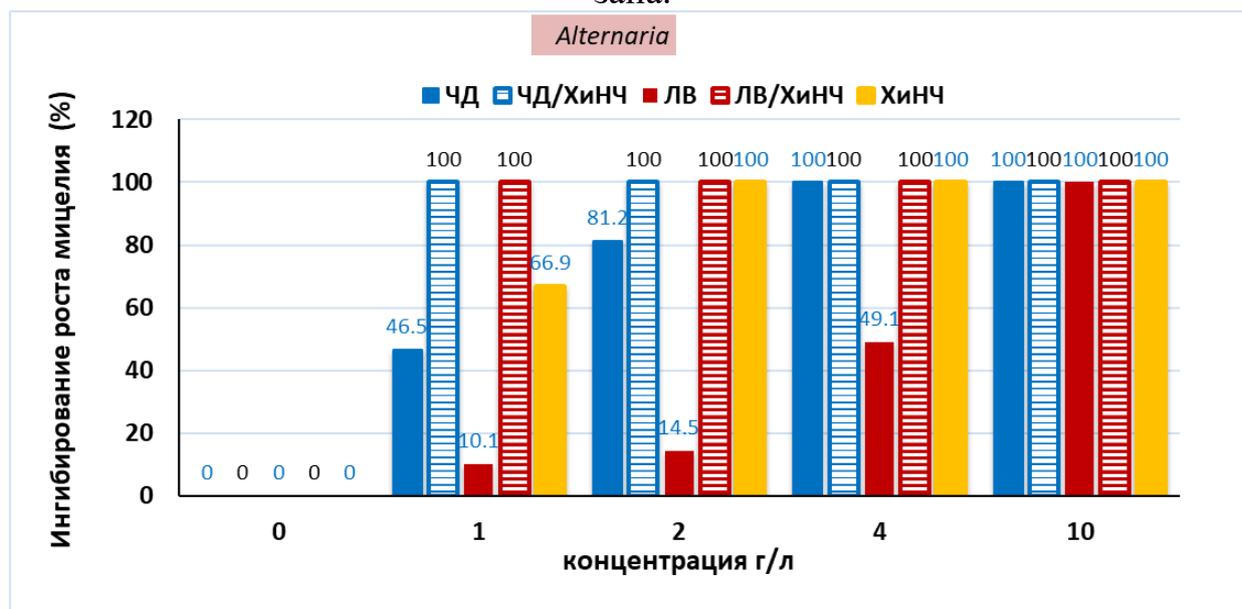


Рисунок 7 – Сравнительная антифунгальная активность свободных и инкапсулированных эфирных масел в отношении роста мицелия *Alternaria* sp. *in vitro*. (ЧД) масло чайного дерева, (ЧД/ ХиНЧ) масло чайного дерева, инкапсулированное наночастицами хитозана, (ЛВ) масло лаванды, (ЛВ/ ХиНЧ) масло лаванды инкапсулированное наночастицами хитозана (ХиНЧ) наночастицы хитозана.

Было обнаружено, что свободное масло чайного дерева является более активным, чем свободное масло лаванды. Кроме того, инкапсуляция нанохитозаном обоих эфирных масел значительно улучшала их антифунгальную активность. Эти результаты согласуются с Веуки et al., (2014), где обнаружили что минимальная ингибирующая концентрация свободного и инкапсулированного эфирного масла мяты перечной *Mentha piperita* в отношении *Aspergillus flavus* составляла 2,0 и 0,5 г/л соответственно.

3.5. Оценка биологической и экономической эффективности экспериментальных препаратов против сухой гнилию при хранении картофеля

Исследования по определению защитного (профилактического) и лечебного (куративного) действия испытуемых нанопрепаратов против фузариоза и альтернариоза проводили на клубнях картофеля сорта Ривьера методом искусственного заражения в лабораторных условиях. На рисунке 8.А и 8.Б представлены результаты в отношении *Fusarium* sp. Было показано, что оба инкапсулированные масла чайного дерева и лаванды оказывали более значительный эффект, чем свободные эфирные масла.

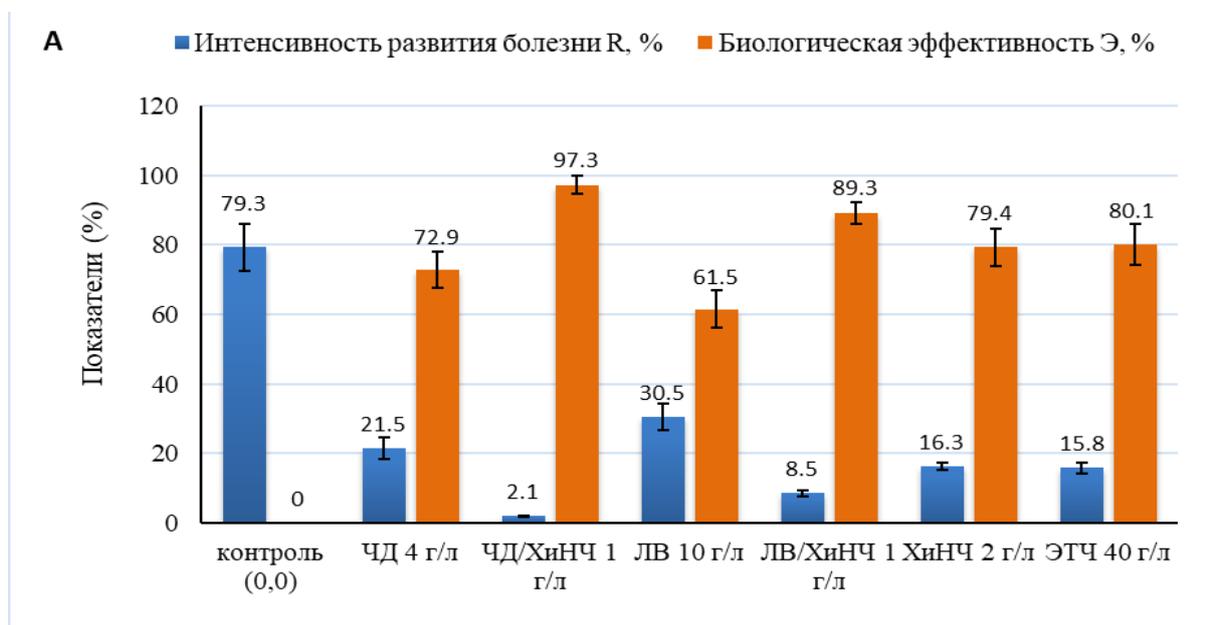


Рисунок 8.А- Биологическая эффективность защитного действия экспериментальных нанопрепаратов против *Fusarium* sp на искусственно зараженных клубнях картофеля сорт Ривьера. (ЧД) масло чайного дерева, (ЧД/ХиНЧ) инкапсулированное масло чайного дерева (ЛВ) масло лаванды, (ЛВ/ХиНЧ) инкапсулированное масло лаванды, (ХиНЧ) нанохитозана, (ЭТЧ) экстракт тополя черного.

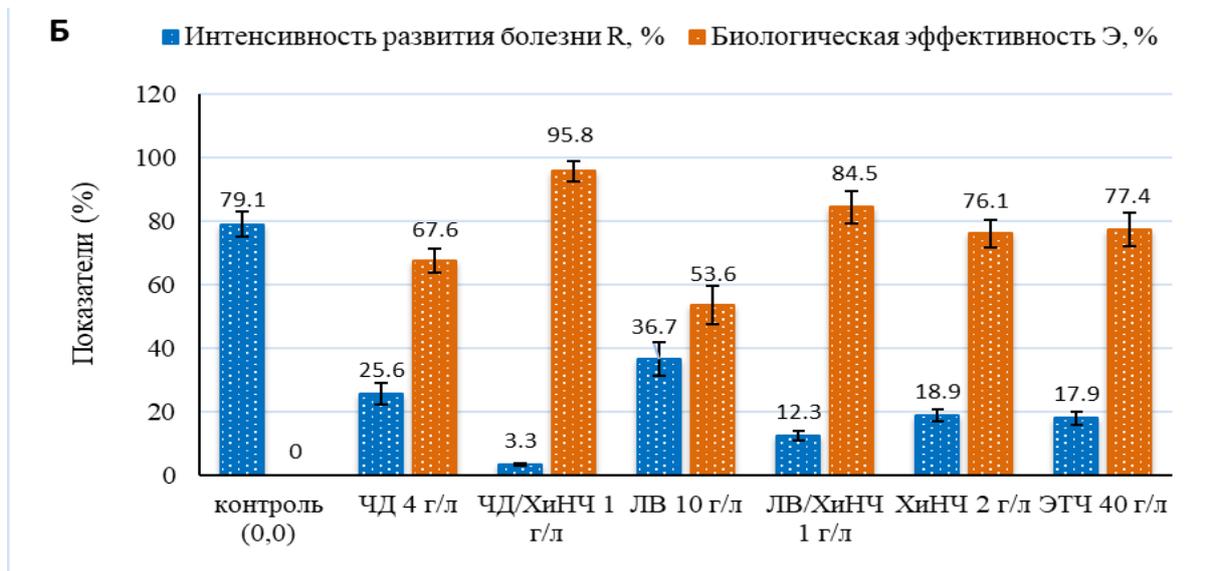


Рисунок 8.Б - Биологическая эффективность лечебного действия экспериментальных препаратов против *Fusarium* sp на искусственно зараженных клубнях картофеля сорт Ривьера. (ЧД) масло чайного дерева, (ЧД/ХиНЧ) инкапсулированное масло чайного дерева (ЛВ) масло лаванды, (ЛВ/ХиНЧ) инкапсулированное масло лаванды, (ХиНЧ) нанохитозана, (ЭТЧ) экстракт тополя черного.

Нанопрепарат инкапсулированного масла чайного дерева (ЧД/ХиНЧ) проявлял биологическую эффективность в большей степени, чем нанопрепарат масла лаванды (ЛВ/ХиНЧ), где подавление развития болезни достигало 97,3% (рисунок 8.А) и 95,8% (Рисунок 8.Б) при защитном и лечебном действии, соответственно, а снижение развития болезни при применении инкапсулированного лавандового масла достигло 89,3% (рисунок 8.А) и 84,5% (рисунок 8.Б) при защитном и лечебном действии, соответственно. При использовании экстракта почек тополя черного в отношении фузариоза при концентрации 40 г/л наблюдалось подавление развития болезни на 80,1% и 77,4% в защитном и лечебном действии, соответственно (рисунок 8.А и 8.Б).

В эксперименте, когда клубни были искусственно заражены *Alternaria alternata* при тех же предыдущих обработках, была обнаружена тенденция подавления инфицированности клубней, аналогичная выявленной при заражении *Fusarium* sp. Анализ биологической эффективности защитного действия экспериментальных препаратов (рисунок 9.А) показал, что в варианте инкапсулированных масел чайного дерева и лаванды была самая высокая эффективность 96,7% и 94,1%, соответственно (рисунок 9.А). В сравнении, фунгицидная эффективность свободного масла чайного дерева была 64,5% (рисунок 9.А). Биологическая эффективность экстракта почек тополя черного при концентрации 40 г/л достигала 83,5,7% (рисунок 9.А). Анализ биологической эффективности лечебного действия экспериментальных препаратов (рисунок 9.Б) пока-

зал, что самая высокая эффективность 94,5% и 88,4% обнаружена в варианте инкапсулированного масла чайного дерева и лаванды при концентрации 1 г/л (рисунок 9.Б).

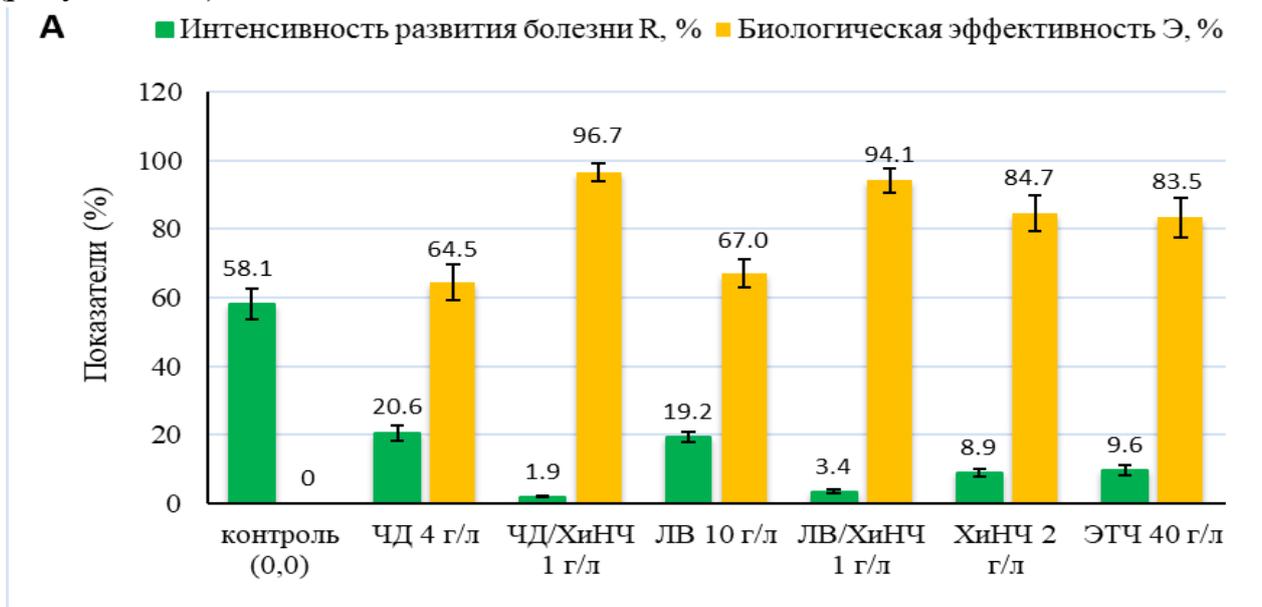


Рисунок 9.А - Биологическая эффективность защитного действия экспериментальных препаратов против *Alternaria* sp. на искусственно зараженных клубнях картофеля сорт Ривьера. ЧД) масло чайного дерева, (ЧД/ХиНЧ) инкапсулированное масло чайного дерева (ЛВ) масло лаванды, (ЛВ/ХиНЧ) инкапсулированное масло лаванды, (ХиНЧ) нанохитозана, (ЭТЧ) экстракт тополя черного.

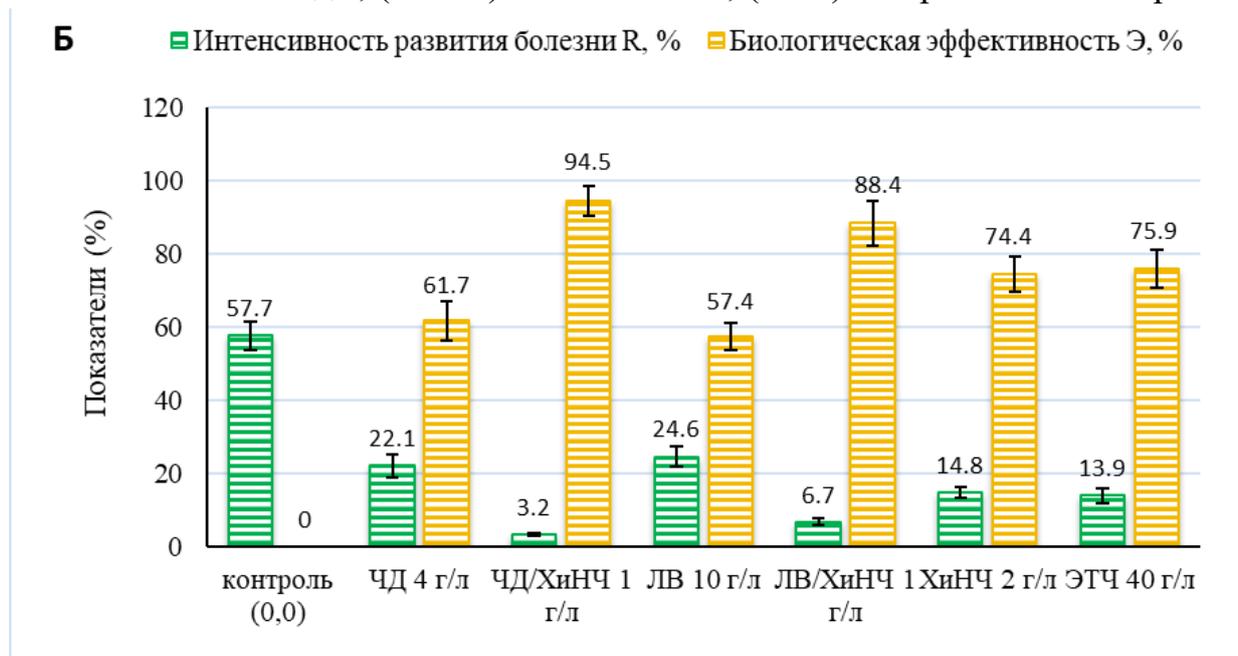


Рисунок 9.Б - Биологическая эффективность лечебного действия экспериментальных препаратов против *Alternaria* sp. на искусственно зараженных клубнях картофеля сорт Ривьера. ЧД) масло чайного дерева, (ЧД/ХиНЧ) инкапсулированное масло чайного дерева (ЛВ) масло лаванды, (ЛВ/ХиНЧ) инкапсулированное масло лаванды, (ХиНЧ) нанохитозана, (ЭТЧ) экстракт тополя черного.

Свободные эфирные масла чайного дерева и лаванды показали гораздо меньшую эффективность 61,7% и 57,4% (рисунок 9.Б). Биологическая эффективность экстракта почек тополя черного при концентрации 40 г/л достигала 75,9% (рисунок 9.Б).

Проведена оценка биологической и экономической эффективности экспериментальных препаратов при хранении картофеля методом естественного заражения. В результате проведенных исследований и статистической обработки данных была установлена достоверность различий по сравнению с контролем. Оказалось, что обработка маслами чайного дерева и лаванды (в свободной или инкапсулированной форме), нанохитозаном, экстрактом почек тополя черного перед закладкой на хранение клубней картофеля снижает распространенность сухой гнили в течение 8 месяцев в 1,7–4,4 раза (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние обработки клубней картофеля свободными и инкапсулированными маслами и экстрактом на распространенность и развитие сухой гнили при хранении (средние за 2020–2022 гг.)

Вариант	Всего сухие гнили (фузариоза и альтернариоза)	
	Распространенность гнилей, % (Весовая доля в урожае, %)	развитие болезни, %
Контроль (вода)	16,4±1,42 (a)	11,1±2,10 (a)
Масло чайного дерева 40 г/т	9,3±1,97 (b)	5,6±1,63 (bc)
Масло лаванды 100 г/т	9,5±1,27 (b)	6,8±1,91 (b)
Нанохитозан 20 г/т	7,8±1,76 (bc)	4,0±0,56 (cd)
инкапсулированное масло чайного дерева 10 г/т	3,7±0,68 (d)	0,9±0,20 (e)
инкапсулированное масло лаванды 10 г/т	4,3±0,15 (d)	1,1±0,26 (e)
экстракт почек тополя черного 400 г/т	6,7±0,90(c)	3,0±0,42 (de)
НСР _{0,05}	2,27	2,22

Примечание: значения с разными буквенными индексами внутри графы (в вертикальных колонках) достоверно различались при $p \leq 0,05$

Обработки клубней нанопрепаратами чайного дерева и лаванды в норме расхода 10 г/т существенно снижало пораженность возбудителями болезни сухой гнили в 3,8–4,4 раза и являлись наиболее эффективным. Обработки нанохитозаном в норме расхода 20 г/т и экстрактом жидкого препарата почек тополя черного в норме расхода 400 г/т существенно снижали пораженность возбу-

телями болезни сухой гнили в 2,1–2,4 раза, обнаружено, что между ними (нанохитозан и экстракт почек тополя черного) не было достоверных различий (таблица 3). С другой стороны, при обработке свободным маслом чайного дерева 40 г/т и лаванды (100 г/т) распространенность гнили снизилась всего в 1,7 раз по сравнению с контролем.

При изучении влияния обработки на степень развития болезни сухой гнили при хранении картофеля, установлено, что в случае нанопрепаратов масел чайного дерева и лаванды в норме расхода 10 г/т являлось наиболее эффективным и существенно снижало степень развития болезни в 10,0–12,3 раза.

Обработка нанохитозаном в норме расхода 20 г/т и экстрактом почек тополя черного в норме расхода 400 г/т существенно снижали степень развития болезни в 2,7–3,7 раза по сравнению с контролем, и между нанохитозаном и тополем существенно не было достоверных различий (таблица 3). С другой стороны, при обработке свободным маслом чайного дерева в норме расхода 40 г/т и лаванды в норме расхода 100 г/т степень развития болезни снизилась всего в 1,6–1,9 раза по сравнению с контролем.

Анализ биологической эффективности всех исследуемых вариантов защиты картофеля по показателям распространенности и развития болезни сухой гнили показал, что по снижению распространенности болезни, самая высокая эффективность (77,4% и 73,7%) была в варианте инкапсулированного масла чайного дерева и лаванды в норме расхода 10 г/т, соответственно (таблица 4). Эффективность экстракта почек тополя черного (400 г/т) составила 59,1%. В опытных вариантах со свободными маслами чайного дерева (40 г/т) и лаванды (100 г/т) обнаружена самая низкая биологическая эффективность 43,2% и 42,0%, соответственно (таблица 4).

По снижению развития болезни, обработка инкапсулированными маслами чайного дерева или лаванды в норме расхода 10 г/т является наиболее эффективным методом, при этом эффективность достигла 91,8% и 90,0%, соответственно (таблица 4). В вариантах с применением экстракта почек тополя черного в норме расхода 400 г/т была отмечена эффективность 72,9% (таблица 4). Наименьшая эффективность 38,7% отмечена в варианте с применением свободного масла лаванды в норме расхода 100 г/т.

Применение инкапсулированных препаратов масла чайного дерева и лаванды (в норме расхода 10 г/т), и экстракт почек тополя черного (в норме расхода 400 г/т) позволило сохранить по 1,27; 1,21; 0,97 ц/т урожая клубней картофеля при длительном хранении. Рентабельность применения инкапсулированных масел чайного дерева и лаванды, и экстракт почек тополя черного составила 490,6%, 487,3%, и 385,0% соответственно, и была выше в сравнении с остальными вариантами.

Таблица 4 – Биологическая эффективность обработки клубней картофеля свободными и инкапсулированными маслами и экстрактом против сухой гнили при хранении (средние за 2020–2022 гг.)

Вариант	Всего сухих гнилей (фузариоза и альтернариоза)	
	Снижение распространности болезни, %	Снижение развития болезни, %
Контроль (вода)	0,0 (e)	0,0 (f)
Масло чайного дерева 40 г/т	43,2±1,62 (d)	49,5±3,77 (d)
Масло лаванды 100 г/т	42,0±1,80 (d)	38,7±3,44 (e)
Нанохитозан 20 г/т	52,4±1,18 (c)	63,9±4,35 (c)
инкапсулированное масло чайного дерева 10 г/т	77,4±2,95 (a)	91,8±2,91 (a)
инкапсулированное масло лаванды 10 г/т	73,7±3,08 (a)	90,0±3,61 (a)
экстракт почек тополя черного 400 г/т	59,1±4,51 (b)	72,9±5,35 (b)
НСР _{0,05}	4,47	6,45

Примечание: значения с разными буквенными индексами внутри графы (в вертикальных колонках) достоверно различались при $p \leq 0,05$

ВЫВОДЫ

1. В условиях аридного климата Астраханской области к наиболее агрессивным возбудителям сухой гнили клубней картофеля относится *Fusarium sambucinum* и *Alternaria alternata*. В отношении фузариоза, сорта картофеля Аризона и Ред Скарлет показали себя достаточно восприимчивыми, Гала и Ривьера - очень восприимчивыми. В отношении альтернариоза, сорт Аризона показал себя среднеустойчивым, сорта Ривьера, Ред Скарлет и Гала – восприимчивыми.

2. По результатам скрининга *in vitro* антифунгальной активности эфирных масел и экстрактов, определены: масло чайного дерева *Melaleuca alternifolia* (МИК = 4,0 г/л), масло лаванды *Lavandula angustifolia* (МИК = 10,0 г/л), масло моринги *Moringa oleifera* (МИК = 16 г/л) и экстракт почек тополя черного *Populus nigra* (МИК = 40 г/л).

3. В результате синтеза и характеристики инкапсулированных эфирных масел, установлено, что соотношение 1,0 : 0,5 (хитозан : эфирное масло) обладает самой высокой степенью эффективности инкапсулирования 89,6% чайного дерева и 86,9% лаванды. Синтезированные препараты имели сферическую форму, наноразмеры 40,0–100,0 нм чистого нанохитозана, 80,0–320,0 нм инкап-

сулированного масла чайного дерева, и 150–680 нм инкапсулированного масла лаванды. Инкапсулированные масла имели положительный дзета-потенциал +38,1 мВ чайного дерева и +39,3 мВ лаванды соответственно.

4. Проведен сравнительный скрининг антифунгальной активности инкапсулированных и свободных эфирных масел, который показал явное преимущество инкапсулированных эфирных масел чайного дерева и лаванды для антифунгальной обработки, что связано с более низкими минимальными ингибирующими концентрациями инкапсулированных масел (МИК = 1,0 г/л) в сравнении со свободными маслами (МИК = 4,0 и 10 г/л). Экстракт почек тополя черного *Populus nigra* показал достаточно высокую антифунгальную активность в свободном жидком состоянии (МИК = 40 г/л).

5. В результате проведенной биологической и экономической эффективности препаратов в отношении инфицирования сухой гнилью после 8 месяцев хранения картофеля было установлено: самая высокая эффективность (77,4% и 73,7%) была в результате обработки препаратами инкапсулированного масла чайного дерева и лаванды, соответственно, в норме расхода 10 г/т. Эффективность жидкого экстракта почек тополя черного (400 г/т) составила 59,1%. Сравнительные результаты обработки свободными маслами чайного дерева (40 г/т) и лаванды (100 г/т) обнаружили низкую биологическую эффективность (43,2% и 42,0%). По наблюдениям подавления развития болезни, обработка препаратами инкапсулированных масел чайного дерева и лаванды (10 г/т) является наиболее эффективным, которая достигает 91,8% и 90,0%, соответственно. Эффективность применения жидкого экстракта почек тополя черного (400 г/т) была 72,9%. Наименьшие результаты эффективности 38,7% обнаружены у свободного масла лаванды (100 г/т).

Уровень рентабельности применения инкапсулированных масел чайного дерева и лаванды, и жидкого экстракта почек тополя черного был выше по сравнению с остальными вариантами обработки и составил 490,6%, 487,3%, и 385,0%, соответственно.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

Результаты применения инкапсулированных масел чайного дерева и лаванды, жидкого экстракта почек тополя черного в части оценки биологической эффективности могут быть использованы в процессе Государственной регистрации, как перспективные фунгициды для защиты картофеля от послеуборочных грибных сухих гнилей при закладке на хранение: инкапсулированные эфирные масла чайного дерева или лаванды в норме расхода 10 г/т; жидкий экстракт почек тополя черного в норме расхода 400 г/т

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Предполагается в дальнейшем, продолжить изучение фитопатогенных особенностей спектра возбудителей грибных и бактериальных болезней картофеля, и изменение биометрических показателей растений в период вегетации и хранения урожая. Используя разработанные в диссертации методы и препараты инкапсулированных нанохитозаном растительных компонентов (эфирных масел и экстрактов), будут расширены исследования, где обработка семенных клубней перед посадкой и опрыскивание растений в период вегетации будет проводиться нанопрепаратами. Предполагается расширение испытаний предложенных препаратов на широком спектре различных сельскохозяйственных культур в отношении фитопатогенов, как в полевых условиях, так и при хранении.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ/РУДН:

- 1- **Зеитар, Е. М.** Защита клубней картофеля от послеуборочной гнили альтернариозы наночастицами хитозана с растительными компонентами / Е. М. Зеитар, Л. Т. Сухенко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2023. – № 194. – С. 368–378.
- 2- **Зеитар, Е. М.** Оценка эффективности экстракта почек тополя черного против альтернариозной гнили клубней картофеля / Е. М. Зеитар, Л. Т. Сухенко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2024. – № 195. – С. 24–31.
- 3- Мохаммед С.Р. Повышение биологической и экономической эффективности эфирных масел путем наноинкапсулирования для борьбы с грибными заболеваниями картофеля / **Е. М. Зеитар**, С.Р. Мохаммед // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2025. – № 205(01). – С. 1–16.
- 4- **Zeitar E.M.** Biological efficacy of chitosan nanoparticles and black poplar buds ethanolic extract against potato dry rot / E.M. Zeitar, L.T. Sukhenko, S.R. Mohammed // Вестник российского университета дружбы народов. Серия: Агронимия и животноводство. - 2025. - No (20)1.- С.102—114. doi: 10.22363/2312-797X-2025-20-1-102-114.

В изданиях, индексируемых в международных базах данных:

- 5- **Zeitar, E.M.** Tea tree essential oil induces resistance against tuber rot caused by *Alternaria alternata* during potato storage / E.M. Zeitar, L.T. Sukhenko, S.R. Mohammed // Journal of Agriculture and Environment - 2023. - № 6 (34). [CAS]

6- **Zeitar, E.M.** induction of defense response in potato tubers against *Alternaria alternata* by *Lavandula angustifolia* essential oil / E.M. Zeitar, L.T. Sukhenko, S.R. Mohammed // Journal of Agriculture and Environment - 2023. - № 7 (35). [CAS]

Публикации в других изданиях:

7- **Zeitar, E.M.** Fungicidal activity of chitosan on plant pathogenic fungi / E.M. Zeitar, L.T. Sukhenko, S.R. Mohammed // II Международной научно-практической конференции, Актуальные проблемы биоразнообразия и биотехнологии, Астрахань, 21 Февраля - 2023. - С. 62–64.

8- **Зеитар, Е.М.** использование эфирного масла семян *Moringa oleifera* для борьбы с сухой гнилью картофеля / Е.М. Зеитар, Л.Т. Сухенко, С.Р. Мохаммед // XIII «Международной научно-практической конференции, наука и образование в современном мире: вызовы XXI века», Астана, Казахстан, 31 МАЯ 2023.

9- **Zeitar, E.M.** Fungicidal activity of *Moringa oleifera* seed oil on *Fusarium sambucinum* / E.M. Zeitar, S.R. Mohammed, L.T. Sukhenko // Международной научно-практической конференции, Актуальные проблемы биоразнообразия и биотехнологии, Астрахань, 2 Ноября - 2021. - С. 60–63.

10- Mohammed, S. R. Inhibition of mycelial growth of *Rhizoctonia solani* by chitosan in vitro and in vivo / S. R. Mohammed, I. D. Eskov, **E. M. Zeitar** // Open Agriculture Journal. – 2019. – Vol. 13, No. 1. – P. 156-161. (Scopus)

11- Мохаммед С.Р. Использование эфирного масла лаванды (*Lavandula angustifolia*) против фузариоза картофеля / С.Р. Мохаммед, **Е.М. Зеитар**, И.Д. Еськов // ВАВИЛОВСКИЕ ЧТЕНИЯ - 2019. Международная научно-практическая конференция, посвященной 132-ой годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. - 2019. С. 210–212.

Аннотация. В данной работе рассматриваются эфирные масла, инкапсулированные нанохитозаном, которые успешно синтезированы методом ионного гелеобразования для биологической защиты клубней картофеля от послеуборочных грибных заболеваний. Установлено, что технология наноинкапсулирования приводит к повышению биологической эффективности эфирных масел в защите картофеля от грибных заболеваний, вызываемых сухой гнилью. Обнаружено также, что жидкий экстракт почек тополя черного обладает высокой эффективностью в отношении возбудителей сухой гнили при хранении картофеля. Установлено, что использование инкапсулированных эфирных растительных соединений приводит к снижению вирулентность и агрессивность возбудителей сухой гнили картофеля и повышает экономический выход и сохранность продукции. Активные носители эфирных масел, такие как нанохитозан, обеспечивают большую площадь обрабатываемой поверхности и позволяют контролировать обработку картофеля биологически активными фунгицидными

ингредиентами, а применение растительного препарата на основе экстракта почек тополя черного подавляет развитие патогенов, что является предпосылкой разработки дешевого, доступного и эффективного биологического препарата для сохранения урожайности клубней при хранении.

Abstract. This work discusses essential oils encapsulated with nano-chitosan, which were successfully synthesized by the ionic gelation method for the biological protection of potato tubers from post-harvest fungal diseases. It was established that nano-encapsulation technology leads to an increase in the biological effectiveness of essential oils in protecting potatoes from fungal diseases caused by dry rot. It was also found that the liquid extract of black poplar buds is highly effective against dry rot pathogens during potato storage. It was established that the use of encapsulated essential oils reduced the virulence and aggressiveness of potato dry rot pathogens and increases the economic yield. Active carriers of essential oils, such as nano-chitosan, provide a large, treated surface area and allow to treat potato tubers with biologically active fungicidal ingredients, and the use of herbal preparation based on black poplar buds extract suppresses the development of phytopathogens, which is a prerequisite for the development of a cheap, accessible and effective biological preparation for preservation of tuber yield during storage.