

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Астраханский государственный университет им. В. Н. Татищева»

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»**

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Сухенко Людмила Тимофеевна
доктор биологических наук,
доцент

Астрахань – 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1. Послеуборочные болезни картофеля	9
1.1.1 Фузариозная сухая гниль картофеля	10
1.1.2. Альтернариозная сухая гниль картофеля (черная пятнистость)	13
1.1.3. Меры борьбы с сухими гнилями картофеля	17
1.2. Альтернативные способы и вещества для борьбы с болезнями картофеля....	19
1.2.1. Эфирные масла растений и их химические компоненты	20
1.2.2. Экстракты растений	25
1.3. Необходимость инкапсуляции эфирных масел	26
1.4. Хитозан	27
1.5. Инкапсуляция растительных биологически активных веществ (эфирных масел и других)	30
1.5.1. Ионное гелеобразование	32
1.5.2. Перспективы использования инкапсулированных эфирных масел	36
2. УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	41
2.1. Климатические условия	41
2.2 Объекты и материалы исследований	43
2.3 Методы исследований.....	47
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	64
3.1. Выявление основных видов послеуборочных грибных возбудителей сухой гнили картофеля, оценка их патогенности и устойчивости к ним различных сортов.....	64
3.2. Скрининг антифунгальной активности эфирных масел и экстрактов в отношении наиболее агрессивных грибных изолятов (<i>in vitro</i>)	72
3.3. Синтез и характеристика инкапсулированных эфирных масел.....	79
3.4. Сравнительная оценка антифунгальной активности инкапсулированных и свободных эфирных масел (<i>in vitro</i>).....	90
3.5. Оценка биологической и экономической эффективности экспериментальных препаратов против сухой гнили картофеля	95
ВЫВОДЫ	109
РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ	110
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	111

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	112
ПРИЛОЖЕНИЯ	149

Список сокращений

БАВ	биологически активные вещества
ЭМ	эфирные масла
ЧД	эфирное масло чайного дерева
ЛВ	эфирное масло лаванды
МО	эфирное масло моринги
МИК	минимальная ингибирующая концентрация
ТПФ	триполифосфат натрия
GRAS	общепризнанно как безопасно
АТФ	аденозинтрифосфат
NaOCl	гипохлорит натрия
КДА	картофельный-декстрозный агар
ЭМ/ХиНЧ	эфирные масла инкапсулированные нанохитозаном (нанокапсулы)
АСМ	атомно-силовой микроскоп
СЭМ	сканирующий электронный микроскоп
ЭИ	эффективность инкапсуляции
ХиНЧ	нанохитозан (наночастиц хитозана)
ЧД/ ХиНЧ	инкапсулированное масло чайного дерева
ЛВ/ ХиНЧ	инкапсулированное масло лаванды
ЭТЧ	экстракт почек тополя черного
МАС	макроконидии
МИС	микроконидии

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Послеуборочные заболевания картофеля, вызванные фитопатогенами, приводят к значительным экономическим потерям. При хранении потери урожая достигают 30–70% (Чулкина и Трушко, 1978; Nnodu et al., 1982). Многие бактерии и грибы могут вызывать порчу картофеля (Еланский, 1998; Игнатов, 2006; Еланский, 2012), но более частые заболевания вызываются грибными видами. Виды *Fusarium* и *Alternaria* встречаются везде, где возделывают картофель (Малюга, 2007; Woudenberg et al., 2014), и традиционными методами защиты картофеля от этих возбудителей являются использование химических пестицидов, вызывающих нежелательные последствия для потребителей и окружающей среды и приводят к появлению резистентных штаммов грибов (Еланский, 2018). По мнению некоторых авторов, химические защитные вещества можно заменить противомикробными компонентами растительного происхождения, такими как эфирные масла и растительные экстракты (Calo et al. 2015). Эти экологически чистые вещества менее вредны для окружающей среды, более устойчивы химически и уменьшают распространение резистентных патогенов растений (Faria Maia et al., 2015). Поскольку эфирные масла являются источниками биологически активных веществ (БАВ), их разнообразие позволяет им бороться 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. Чтобы повысить стабильность и преодолеть разрушение биологически активных соединений при переработке и хранении, недавно была применена новая технология нанокапсулирования. Нанокапсулирование биоактивных соединений представляет собой эффективный метод повышения физической стабильности и биоактивности БАВ из-за субклеточного размера (Donsì et al., 2011), и обеспечивает контролируемое высвобождение инкапсулированных веществ. В последние го-

ды наблюдается значительный интерес к разработке биоразлагаемых наночастиц. Хитозан вызывает большой интерес при инкапсулировании биологически активных веществ из-за его биосовместимости, низкой токсичности и способности к биологическому разложению (Harris et al., 2011; Donsì et al., 2011)

Степень разработанности темы. 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 антимикробной 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 исследований. Разработка биологической защиты клубней картофеля от послеуборочных грибных заболеваний инкапсулированными нанохитозаном эфирными маслами и экстрактами

Основные задачи исследований:

1. Выявление основных видов послеуборочных грибных возбудителей сухой гнили картофеля в условиях аридного климата Астраханской области и

оценка их патогенности и устойчивости к ним различных сортов картофеля;

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 400 г/т обладает высокой эффективностью в отношении возбудителей сухой гнили при хранении картофеля.

Теоретическая значимость. 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 наноразмерные носители, такие как нанохитозан, имеют большую площадь поверхности, что обеспечивает более эффективную доставку необходимых фунгицидов. Также помогает улучшить контролируемое высвобождение биологически активных ингредиентов, обеспечивая их высвобождение в нужное время и количестве. Установлено также, что применение растительного препарата на основе экстрактов почек тополя черного подавляют развитие патогенов

фузариоза и альтернариоза на клубнях картофеля, 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 распро-страненность 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 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:

- 1- Антифунгальная активность эфирных масел чайного дерева, лаванды, моринги, экстракта почек тополя черного в отношении возбудителей болезней клубней картофеля *Fusarium sambucinum* и *Alternaria alternata*;
- 2- Синтез и характеристика инкапсулированных эфирных масел чайного дерева и лаванды;
- 3- 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 РUDN, 2 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах данных CAS, 5 статей в материалах конференций и других журналах.

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.

Личный вклад автора заключается в проведении экспериментов, обработке и интерпретации полученных данных, подготовке материалов научных публикаций и написании диссертационной работы.

1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Послеуборочные болезни картофеля

Клубни картофеля (*Solanum tuberosum* L.), широко известные как «король овощей», являются наиболее продуктивными овощами в мире и обеспечивают основной источник питания и доходов для многих групп населения и сообществ, а также содержание в сухом веществе белка, энергетических компонентов, делает его хорошим питательным овощем с высокой пищевой ценностью (Боева и Дубин, 2016). Картофель считается самым потребляемым продуктом в мире, особенно во многих странах, где овощная корзина считается неполной без картофеля (Bradshaw and Ramsay, 2005; Технология производства картофеля..... 2014). Около 70% урожая картофеля помещается на среднелетельное хранение для удовлетворения потребностей потребителей и переработчиков. Однако, по некоторым оценкам, ежегодные послеуборочные потери в мире составляют в среднем 10–15 % собранного урожая, и могут достигать 30 % в развивающихся странах, где отсутствуют складские помещения и передовой опыт сбора и хранения урожая, а полная его переработка не соблюдается в полной мере (Benkeblia, 2012).

Порча клубней картофеля при хранении может быть следствием как физиологических нарушений, так и патологических процессов. С другой стороны, уход за картофелем в послеуборочный период достаточно сложен, так как на него влияет множество взаимосвязанных процессов, влияющих на качество клубней в процессе срока хранения. Таким образом, борьба с послеуборочными болезнями картофеля требует постоянного контроля во время хранения, а несоблюдение правил хранения и контроля может осложнить сохранность урожая и увеличить потери (Burton, 1966). Таким образом, существует реальная потребность в устойчивом увеличении производства картофеля для удовлетворения растущих потребностей в продуктах питания в связи с ростом населения (Bradshaw and Ramsay, 2005).

Многие бактерии и грибы вызывают послеуборочную порчу овощей, однако чаще встречаются овощные патогены грибного происхождения (Игнатов, 2006; Еланский, 2012).

В условиях аридного климата Астраханской области, где природными особенностями являются климатические условия, отличающиеся засушливыми среднегодовыми показателями воздуха (влажность 30-50%, средняя весенне-летняя температура 30-35°C), отсутствием дождей в весенне-летний период, и особенностями почвенного состава (суглинистые и супесчаные почвы аридного региона) (Сухенко, 2017), выращивание картофеля осуществляется при искусственном поливе. В связи с этим, агротехнология возделывания картофеля и хранение его имеют некоторые особенности, связанные с климатическими факторами. Так, по публикациям некоторых авторов, на всей территории Астраханской области, отмечается весьма резкий засушливый климат, а также почвы с низким содержанием гумуса, что в значительной мере накладывают отпечаток на продуктивность этой культуры, поэтому различные сорта картофеля выращивают с использованием усовершенствованных агротехнологий возделывания различных сортов раннего и среднеспелого картофеля, что является весьма важным направлением в овощеводстве Нижневолжского региона (Бондаренко и Тютюма, 2023).

1.1.1 Фузариозная сухая гниль картофеля

Основными патогенами сухой гнили картофеля считаются грибы фузариоза (*Fusarium* spp.), фомоза (*Phoma exigua* spp.) и альтернариоза (*Alternaria* spp.) (Макеева, 2004; Малюга, 2007; Ильященко, 2010).

Сухая фузариозная гниль картофеля (сухая гниль) может быть разрушительной послеуборочной болезнью во всем мире и вызывается несколькими видами фузариоза (Secor and Salas, 2001; Gachango et al., 2011a, b). Сухая гниль поражает клубни картофеля как при хранении, так и семенные клубни в поле (Choiseul et al., 2006; Wharton et al., 2007). Потери, связанные с сухой гнилью,

оцениваются в диапазоне от 6 до 25%, а иногда сообщалось о потерях до 60% при длительном хранении (Estrada et al., 2010; Secor and Salas, 2001). Заражение клубней картофеля возбудителями сухой гнили происходит через раны, полученные во время уборки, сортировки, разрезания и обработки клубней (Secor and Salas, 2001).

Болезнь, вызываемая в основном несколькими видами фузариоза *F. sambucinum*, *F. solani* var. *coeruleum* (*F. coeruleum*), *F. oxysporum*, *F. avenaceum* (Peters et al., 2008a), выражается в виде крупных полых концентрических колец в клубне; при этом полости под подгнившим участком обычно выстланы фузариозным мицелием и спорами различной окраски (Stevenson et al., 2001). Заболевание обнаруживается на клубнях через 2–3 месяца после закладки их на хранение. Вначале на клубне появляются слегка вдавленные, серовато-бурые пятна. Мякоть под ними становится сухой, трухлявой, кожура клубня в местах поражения сморщивается и приобретает характерную складчатость.

В дальнейшем гниль охватывает весь клубень, он ссыхается, становится твердым и легким. На поверхности клубня образуются подушечки конидиального спороношения гриба – белые, желтые или розовые, в зависимости от вида *Fusarium* (рисунок 1.)

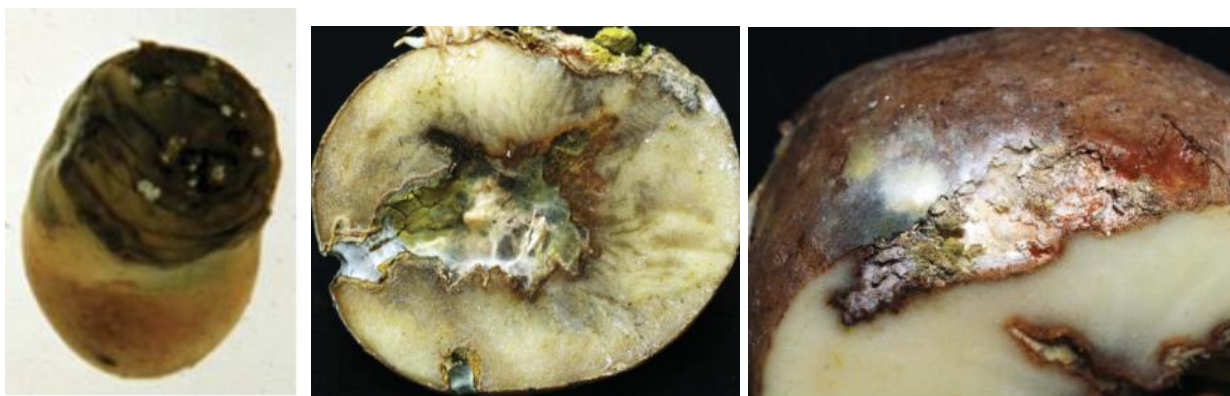


Рисунок 1 - Симптомы фузариозной сухой гнили картофеля (Wharton et al., 2007).

Инфекция обычно попадает в хранилище с поля вместе с клубнями, на комочках прилипшей к ним почвы. Грибы рода *Fusarium* почти всегда присутствуют в почвах, так как они способны жить сапрофитно на органических остатках.

Инфекция сохраняется и в хранилище, если оно не очищено и не продезинфицировано после освобождения его от картофеля (Wharton et al., 2007, Защита картофеля от болезней, вредителей..... 2009). Жизненный цикл *Fusarium* представленный на (рисунок 2). Воловик (1973) отмечает, что видовой состав возбудителей сухих гнилей зависит от почвенно-климатических условий и сроков хранения картофеля. Производители семенного и товарного картофеля получают семена в виде целых клубней для выращивания для повторной сертификации в качестве семян или для коммерческого производства. Клубни нарезают на кусочки и перед посадкой обрабатывают протравкой для семян, такой как флудиоксонил или тиабендазол (Wharton et al., 2007).

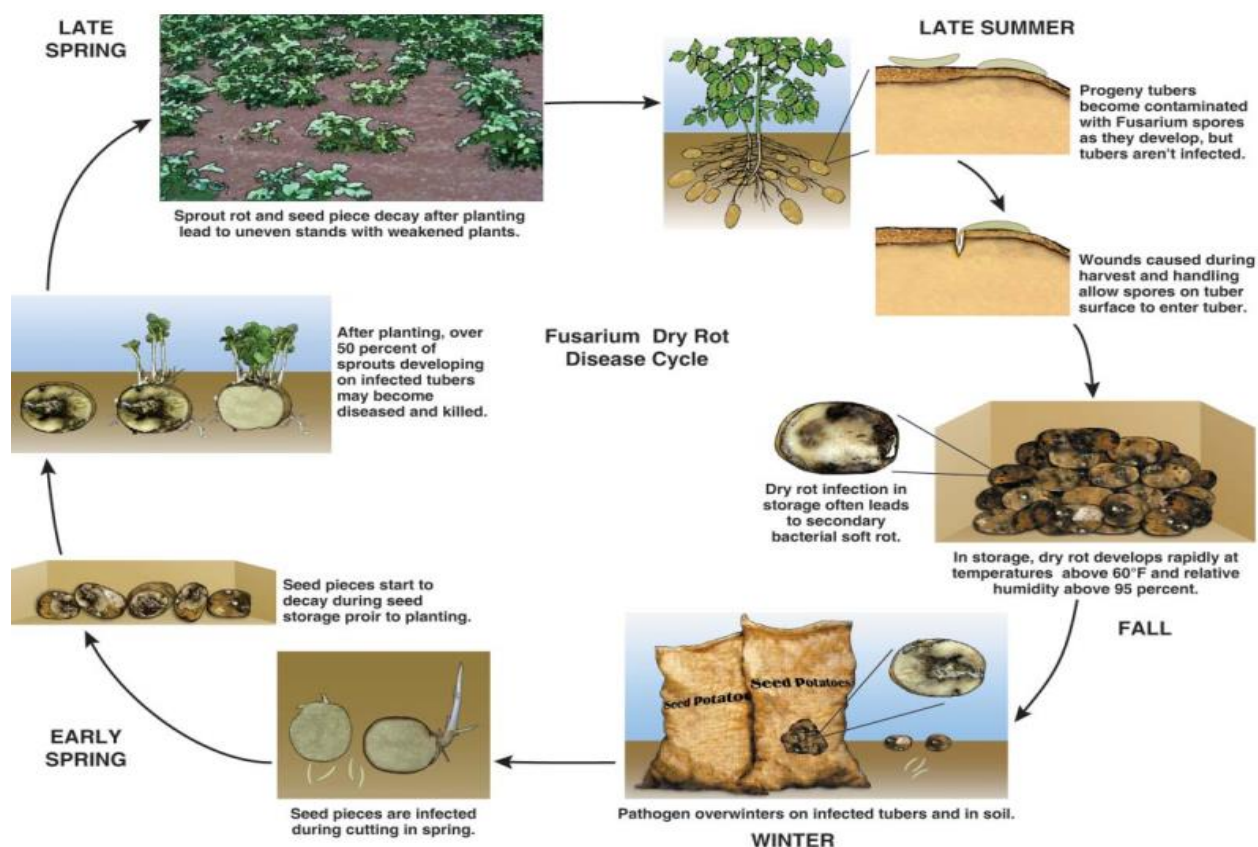


Рисунок 2 - Цикл развития (жизненный цикл) *Fusarium sambucinum* (Wharton et al., 2007).

Резка семенных клубней может привести к заражению семян патогенными микроорганизмами. Это может привести к развитию сухой гнили в полевых условиях или при хранении, после повреждения клубней во время сбора урожая.

С сухой гнилью семенного картофеля можно бороться в два этапа: (i) перед посадкой с помощью обработки семян; и (ii) после сбора урожая с помощью послеуборочной обработки. (Nolte et al., 2003). Флудиоксонил, фенилпиррол, зарегистрированных для обработки семян картофеля против фузариозной сухой гнили. Исследования показали, что флудиоксонил способен уменьшать загнивание кусочков семян, а также частоту появления больных ростков (Wharton et al. 2007), которые перерастают в инфицированные растения. Недавно в разных странах были зарегистрированы устойчивые к флудиоксонилю штаммы *Fusarium*, включая штаммы *F. sambucinum*, *F. oxysporum* и *F. coeruleum* (Gachango et al., 2011, Peters et al., 2008), *F. solani*, *F. culmorum*, *F. Acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. sporotrichioides* (Ocamb et al., 2007).

1.1.2. Альтернариозная сухая гниль картофеля (черная пятнистость)

Симптомы появления черных пятен на листьях включают некроз, который может варьироваться от темно-коричневого до черного цвета, и впервые становится заметен всего через несколько недель после появления на нижних и самых старых листьях. Вначале на листьях появляются маленькие темно-коричневые точки диаметром в несколько миллиметров. Зона некроза увеличивается, и пятна становятся больше, покрывая весь лист. Часто повреждения локализируются на жилках листа, приобретая угловатую форму. Ширина некроза составляет от нескольких миллиметров до 2 сантиметров. В более крупных поражениях виден ряд темных концентрических колец. Этот образец мишени типичен для симптомов черных пятен альтернариоза (Wharton and Kirk, 2007). Впоследствии некротическая ткань листа часто окружена хлоротичной каймой, вызванной грибными микотоксинами, которые окрашивают ткань листа в желтый цвет. Хлороз может распространяться на весь зараженный лист. При прогрессировании болезни пораженные участки увеличиваются, весь лист некротизируется и опадает. В Европе наблюдается рост заболеваемости альтернариозом

с середины июля, в жаркую и сухую погоду или при стрессовых условиях для урожая картофеля, а также на старых растениях. Затем болезнь начинает распространяться от нижних листьев к средним и, наконец, к верхним листьям растения (Wharton and Kirk, 2007; Adolf and Hausladen, 2020). Конидии, смываемые с листьев, также могут поражать клубни. Симптомы на клубнях включают темные, слегка вдавленные поражения. (рисунок 3.1, 3.2). Сухая гниль клубней приводит к потерям при хранении, снижает качество собранных клубней и всхожесть семенного картофеля (Wharton and Kirk, 2007; Adolf and Hausladen, 2020).



Рисунок 3.1 - (а) Клубни, пораженные альтернариозом, обычно слегка вдавлены и имеют округлую или неправильную форму, окруженную рельефной каймой от фиолетового до темно-коричневого цвета. (б) Подлежащие ткани имеют кожистую или пробковую текстуру (стрелки) (Wharton and Kirk, 2007).

Обычно считается, что основным возбудителем черной пятнистости на пасленовых культурах является *Alternaria solani* Sorauer (Gannibal et al., 2014). Однако есть сообщения о других крупноспоровых *Alternaria* spp. причастных к болезни черной пятнистости картофеля. Rodrigues et al. (2010) обнаружили, что *A. grandis* Simmons, но не *A. solani*, был возбудителем, поражающим растения картофеля в нескольких регионах выращивания в Бразилии. *Alternaria protenta* была обнаружена в Алжире (Ayad et al., 2017) и вместе с *A. grandis* и *A. solani* оказалась частью комплекса *Alternaria* spp. в Бельгии (Landschoot et al., 2017a).

Из видов *Alternaria* с мелкими спорами *A. alternata* встречается на картофеле с черными пятнами (Leiminger et al., 2014). *Alternaria alternata* — гриб, который связан с пищевыми отравлениями из-за выработки микотоксинов, которые включают альтерналиол, альтенуол, монометиловый эфир альтерналиола, альтертоксины и L-тенуазоновую кислоту (Scott, 2001).

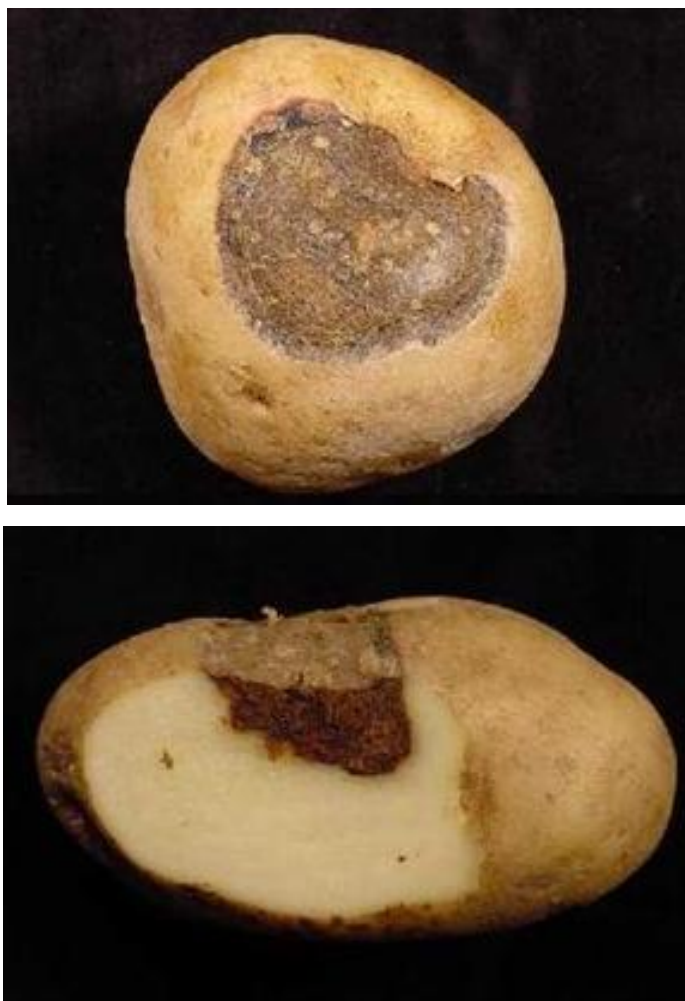


Рисунок 3.2 - Поражения альтерналиозом на клубнях картофеля (Kemmitt, 2002).

Некоторые из них опасны, и действительно, альтерналиол и метиловый эфир альтерналиола могут увеличивать скорость разрывов ДНК клеток карциномы человека путем ингибирования релаксации ДНК и стимуляции расщепления ДНК топоизомеразы I, II α и II β (Fehr et al., 2009). Также известно, что этот вид вызывает грибный кератит у людей (Xu et al., 2013). Изоляты обычно образуют колонии диаметром более 70 мм через 7–10 дней. Основываясь на ха-

рактуре спороношения односпоровых колоний, *A. alternata* отличается образованием цепочек конидий длиной от шести до 14 конидий и развитием многочисленных вторичных, а иногда и третичных цепочек длиной от двух до восьми конидий. Ветвление цепи происходит симподиально за счет удлинения вторичных конидиофоров от дистальных концевых конидиальных клеток и последующего образования конидий. Мелкие конидии (длиной 20–50 мкм) являются важной характеристикой этого вида. Кониды овальной формы, разделены поперечными и вертикальными стенками, с минимальным развитием апикальных отростков. Гифы и конидиофоры светло-коричневые и перегородчатые (Simmons and Roberts, 1993; Simmons, 1999). Жизненный цикл альтернарии показан на (рисунок 4).

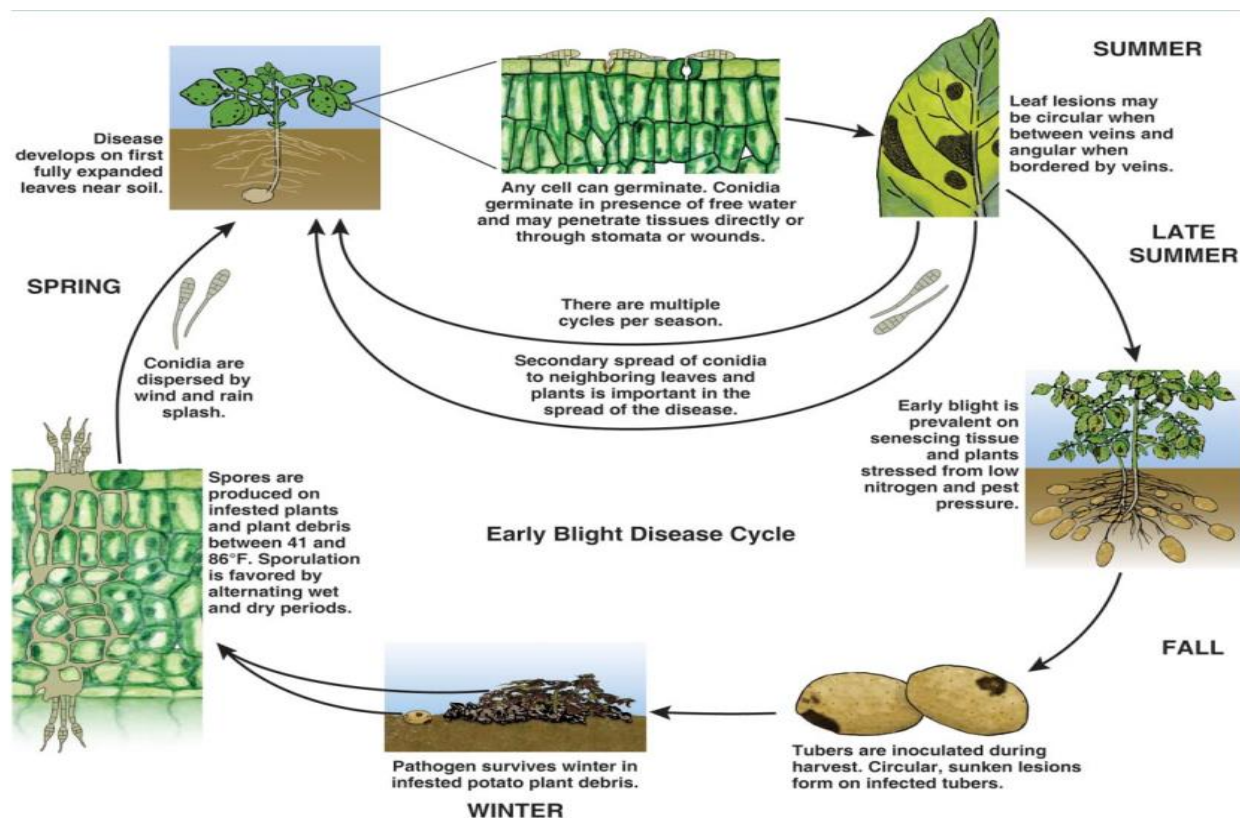


Рисунок 4 - Цикл развития *Alternaria* (Wharton and Kirk, 2007).

Alternaria alternata использует различные пути проникновения в ткани растений, такие как раны, естественные отверстия, такие как чечевички, концы стеблей и цветоножки, а также путем прямого нарушения кутикулы растения-хозяина (плодовые) (Mersha et al., 2012), что позволяет возбудителю проникнуть в незрелую ткань и оставаться в состоянии покоя в течение нескольких

недель, пока не созреют плоды. Как правило, ткани, ослабленные различными стрессами, старением или ранением, более восприимчивы к инфекциям *Alternaria*, чем здоровые ткани (Mmbaga et al., 2011). Виды *Alternaria* являются выносливыми грибами и могут жить в экстремальных условиях. *A. alternata* может зимовать в почве, семенах, зараженных растительных остатках или многолетних тканях хозяина, таких как кора, и чешуйчатые листья, в виде мицелия и/или конидий. Борьба с альтернариозом может стать серьёзной проблемой в будущем. Изменение климата и глобальное потепление могут создавать более благоприятные условия для4 заражения, роста и развития гриба в ряде регионов, где выращивают картофель. Повышение температуры в течение вегетационного периода создаёт благоприятные условия для патогенеза, поскольку ему необходимы более высокие температуры и низкая влажность (Campos, Ortiz, 2020).

1.1.3. Меры борьбы с сухими гнилями картофеля

Примерно с 1970 по 1985 год борьба с сухой гнилью в первую очередь и эффективно достигалась за счет послеуборочного применения тиабендазола. Однако с конца 1980-х годов многие штаммы *F. sambucinum* стали устойчивыми к бензимидазольным фунгицидам, таким как тиабендазол и тиофанат-метил, что привело к плохой борьбе с сухой гнилью. Возбудитель заражает через раны; таким образом, модификация обращения с клубнями для уменьшения повреждений во время сбора урожая и хранения, а также использование эффективной обработки семян в сочетании с надлежащими методами управления во время резки и хранения срезанных семян перед посадкой имеют важное значение для снижения фузариозной сухой гнили (Wharton et al., 2007).

Сухая фузариозная гниль всегда присутствует в семенах, предназначенных для продажи. Целесообразно высаживать семена, соответствующие установленным стандартам сертификации семян. Следующие процедуры помогут искоренить заболевание:

- К посадке только сертифицированных семян.

- Семенные клубни следует хранить при температуре 4,5–5,5°C и относительной влажности воздуха от 85 до 90% с вентилированием.
- Перед нарезкой семенные клубни нагревают до 10 °C, чтобы свести к минимуму повреждения и способствовать быстрому заживлению.

Биологический контроль. В настоящее время проводятся исследования по оценке использования биофунгицидов, содержащих бактерии биологической борьбы *Bacillus subtilis* и *B. pumilus*, а также грибы биологической борьбы *Trichoderma harzianum* для борьбы с сухой гнилью *Fusarium* на картофеле. Эти соединения оцениваются как для обработки семян, так и для послеуборочного применения при хранении.

Химическая контроль. Некоторые продукты были разработаны специально для борьбы с болезнями картофеля, передающимися через семена. К ним относятся Tops MZ, Maxim MZ (и другие составы Maxim + манкоцеб) и Moncoat MZ. Общее воздействие этих обработок семян проявляется в улучшении стойкости растений и энергии урожая, но иногда применение обработок семян в сочетании с холодными и влажными почвами может привести к задержке появления всходов.

Для борьбы с сухой альтернариозной гнилью есть несколько мер, которые следует применять комплексно. Агротехнические приемы - такие как севооборот, удаление и сжигание зараженных растительных остатков и уничтожение сорняков-хозяев, помогают снизить уровень инокулята для последующих посадок. Поскольку *Alternaria* sp. сохраняется в растительных остатках в поле от одного вегетационного периода к другому, севооборот с культурами, не являющимися хозяевами (например, мелкозерновыми, кукурузой или соей), уменьшает количество первоначального инокулята, доступного для инициации болезни (Gonzalez and Valenzuela, 2007).

Химический контроль - Наиболее распространенным и эффективным методом борьбы с альтернариозом является применение листовых фунгицидов. Защитные фунгициды, рекомендуемые для борьбы с фитофторозом (например,

манеб, манкоцеб, хлороталонил и гидроксид трифенилолова), также эффективны против альтернариоза при применении с интервалами примерно в 7–10 дней. Другие фунгициды, показавшие эффективность против ранней гнили, содержат азоксистробин, трифлуксистробин, фамоксадон, пиретамил, фенамидон и боскалид.

Менее эффективным, но вполне пригодным для применения в рекомендуемых дозах можно признать манкоцеб, причем он действовал эффективнее на *A. solani*, чем на мелкоспоровые виды. Слабую эффективность показали хлороталонил и азоксистробин (Побединская и др., 2012).

1.2. Альтернативные способы и вещества для борьбы с болезнями картофеля

Традиционными методами сохранения сельскохозяйственной продукции являются применение химических пестицидов, что вызывает нежелательные последствия для потребителей. Опасения, связанные с токсическим воздействием синтезированных пестицидов и возрастающей устойчивости патогенов к этим соединениям, усилили необходимость выявления новых альтернативных природных противогрибных веществ с помощью инновационных технологий. Биологически активные вещества (ПАВ) ароматических и лекарственных растений, такие как эфирные масла, фитонциды, обладают широким спектром противогрибной активности (Dantas Guerra, et al., 2015). Существуют и другие альтернативы использованию синтетических химических фунгицидов для сохранения фруктов и овощей при хранении и сроке годности, такие как биологический контроль, применение природных соединений, включая хитозан, эфирные масла, изотиоцианаты, элиситоры, коротковолновое излучение, озон и т. д. Согласно Romanazzi et al., (2012), идеальная альтернативная обработка для борьбы с послеуборочными болезнями должна быть доступной и простой в применении, не должна оказывать негативного влияния на плоды, окружающую среду или здоровье человека и должна соответствовать требованиям безопасности пищевых продуктов. Некоторые альтернативные методы, такие как биологический

контроль, термическая обработка, упаковка в модифицированной атмосфере, натуральные соединения и растительные экстракты.

1.2.1. Эфирные масла растений и их химические компоненты

Эфирные масла (ЭМ) представляют собой сложные природные смеси ароматических веществ, получаемых из растений. Названия образцов ЭМ обычно связаны с видами растений, из которых они были выделены, или с преобладающим компонентом ЭМ. Например, масло тимьяна в основном содержит 6 соединений: тимол (72%), карвакрол (5,7%), линалоол (4,0%), α -терпинеол (2,4%), 1,8-цинеол (2,1%) и борнеол (2,0%). % (Lee, et al. 2005; Walentowska & Foksowicz-Flaczyk, 2013). ЭМ состоят из 20–60 отдельных компонентов, которые обычно присутствуют в значительно различающихся концентрациях (Russo, et al., 1998). Наиболее распространенные компоненты обычно составляют до 85% эфирных масел, в то время как другие компоненты присутствуют только в виде следов. Как правило, концентрация этих основных компонентов зависит от используемых методов экстракции, стадии сбора урожая, метеорологических условий, географических/высотных вариаций и генетических вариаций. Например, было замечено, что раннее цветение, полное цветение, посев и старение напрямую влияют на биологические свойства эфирных масел (Suprakul et al., 2003). ЭМ в основном состоят из терпенов, ароматических соединений и терпеноидов. ЭМ обычно делят на карбюраторы (пинены, оцимен, мирцен, терпинены, фелландрены, -3-карен, п-цимен, сабинен, камфен), спирты (линалол, гераниол, ментол, цитронеллол, α -терпинеол, лавандулол, нерол, коричный спирт), альдегиды (коричный альдегид, гераниал, цитронеллаль, нераль), кетоны (камфора, ментоны, пиперитон, карвон, пулегон, фенхон, туйон), сложные эфиры (ментил, α -терпинилацетат, линалилацетат, пропионат, изоборнилацетат, цитронеллилацетат), эфиры (ментофуран, 1,8-цинеол), фенолы (карвакрол, тимол, эвгенол), пероксиды (аскаридол), метилendioксисоединения (миристицин, сафрол, апиол) и метоксипроизводные (эстрагол, анетол, метил-

эвгенолы, элемицин) (Bakkali, et al., 2008). Ниже приводится приблизительный общий рейтинг специфических компонентов эфирного масла, которые вызывают самые высокие антимикробные эффекты: фенолы> альдегиды> кетоны> спирты> простые эфиры> углеводороды (Ballester-Costa, et al., 2013).

Эфирное масло чайного дерева (ЧД), извлеченное из растения *Melaleuca alternifolia*, содержит много компонентов, в основном терпены и их спирты, было обнаружено, что оно является эффективным антисептиком, бактерицидом (Carson and Riley, 1993; Carson et al., 2006), а в последнее время — эффективным фунгицидом (Shao et al., 2013 a, b; Reuveni et al., 2020). Его активность вызвала вопросы относительно его способности действовать не только как биофунгицид или биобактерицид, но и системно усилить устойчивость растений (Dalio et al., 2020). На многих культурах, включая бананы и фруктовые деревья, ЧД оказался эффективным против широкого спектра фитопатогенных грибов (Reuveni et al., 2009; Vardi and Reuveni, 2009). ЧД применяли к растениям банана, зараженным *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Фос, Race 1), вызывающий фузариозное увядание, и растения томатов, зараженные *Xanthomonas campestris*. Параметры для оценки индукции резистентности включали: развитие заболевания, ферментативную активность, экспрессию генов защиты, коррелирующую с системной приобретенной резистентностью (SAR) и индуцированной системной резистентностью (ISR), а также эффект праймирования. Опрыскивание ЧД выращенных в поле растений бананов, инфицированных *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, и тепличных растений томата, инфицированных *Xanthomonas campestris*, привело к индукции резистентности у обоих хозяев. Несколько маркерных генов путей салициловой кислоты, жасмоновой кислоты и этилена были значительно активизированы параллельно с уменьшением симптомов (Dalio et al., 2020).

Род *Lavandula* (семейство Lamiaceae), небольшой ароматный кустарник, произрастающий в Средиземноморье, культивируется во всем мире из-за его эфирных масел, которые находят применение в различных областях промышленности, таких как парфюмерия, фармацевтика и косметика; кроме того,

эфирное масло лаванды широко используется в пищевой промышленности благодаря своим биологическим свойствам, а также привлекательному аромату (Da Porto et al., 2009). Эфирное масло лаванды (*Lavandula angustifolia* Mill.) содержит в основном линалоол и линалилацетат, а также умеренные уровни лавандулацетата, терпинен-4-ола и лавандулола (Duru et al., 2014). Оно эффективно против роста широкого спектра микроорганизмов (Bialon et al., 2019) и обладает антиоксидантной активностью (Danh et al., 2013). Антифунгальное исследование *in vitro* показало, что эфирное масло лаванды подавляет рост *Sclerotium rolfsii*, фитопатогенного гриба, вызывающего послеуборочные заболевания многих фруктов и овощей (Caprari et al., 2021).

1.2.1.1. Функция и активность эфирных масел

ЭМ в основном отвечают за антибактериальную и антиоксидантную активность. Многочисленные исследования изучали антибактериальные эффекты эфирных масел *in vitro*. Эфирные масла гвоздики, шалфея, розмарина, орегано, корицы и других растений изучались как потенциально важные природные консерванты и антимикробные агенты в различных продуктах питания (Jayasena and Jo, 2014). Многие эфирные масла обладают широким спектром антимикробной активности. Donato, et al., (2015) сообщили, что протестированные грамположительные и грамотрицательные бактерии были явно чувствительны к ЭМ полыни (артемизии). По данным Gandomi, et al., (2009), *Zataria multiflora* Boiss. Эфирное масло значительно подавляло радиальный рост *Aspergillus flavus* на 21,3%, 42,7% и 79,4% при концентрациях 50, 100 и 200 мг/л в культуральной среде соответственно, а рост полностью подавлялся при превышении 400 мг/л. продукция афлатоксина также подавлялась при всех испытываемых концентрациях. Эти результаты показывают, что эфирные масла потенциально могут заменить химические антибактериальные и противогрибные вещества в качестве естественных ингибиторов.

1.2.1.2 Применение эфирных масел для борьбы с грибными болезнями картофеля

Было определено действие камфорного масла (*Eucalyptus globulus*), масел черного тмина (*Nigella sativa*), чеснока и мяты против *Fusarium solani* и *Sclerotinia sclerotiorum* *in vitro* и *in vivo* на клубни картофеля при хранении. *Fusarium solani*, *F. semitectum* и *Sclerotinia sclerotiorum* были полностью подавлены применением масла мяты в концентрациях 0,3 и 0,4% *in vitro*. Результаты *in vivo* также показали, что препарат *Nigella sativa* был наиболее эффективным, поскольку он полностью подавлял разветвление заболевания, вызванного *Fusarium solani* и *Sclerotinia sclerotiorum*. Эфирные масла поддерживали высокое качество прорастания клубней и снижали потери веса. Как правило, обработка эфирными растительными маслами обеспечивает эффективный контроль над двумя патогенами и уменьшает потерю массы клубней картофеля в свежем виде в дополнение к уменьшению прорастания клубней при хранении при температуре 13°C в течение двух месяцев (Attia et al., 2019).

Обработка клубней картофеля S-(+)-карвоном, R-(-)-карвоном, гвоздичным маслом, маслом мяты перечной, молотыми гвоздиками и чесночным порошком в течение 14 дней не обеспечивала какой-либо степени контроля фузариозной сухой гнили. Некоторые виды обработки значительно изменили вкус картофеля. Некоторые участники дегустационной комиссии сочли измененный вкус желательным, а другие - нежелательным (Elsadr, 2010). Rashied (2008) обнаружил, что масла корицы и гвоздики в концентрациях 0,25 % и 0,5 % подавляют сухую гниль на клубнях картофеля, выдержанных при температуре 10°C при относительной влажности 85-90 % в течение 90 дней, в то время как высокая влажность 85–90% сухой гнилью была обнаружена на клубнях либо естественно инфицированных, либо искусственно инокулированных клубней всеми тестируемыми изолятами *Fusarium* spp. Аналогичная тенденция к высокому ингибирующему эффекту была получена, когда клубни картофеля, обработанные

маслами корицы и гвоздики, хранились при температуре 20°C при относительной влажности 85-90% в течение 45 дней.

Антифунгальная активность масла и экстракта семян *Moringa oleifera* была исследована *in vitro* в отношении растительных патогенных грибов, таких как *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Alternaria solani*, *Alternaria alternate*, *Rhizoctonia solani*. Самые высокие показатели снижения как роста, так и прорастания спор были зафиксированы для масла моринги в концентрации 2,5%, за которым следовал экстракт семян (El-Mohamedy and Abdallah, 2014). Эфирные масла лемонграсса, мяты перечной, герани, фенхеля, биссиликума, майорана и гвоздики заметно подавляли диаметр роста и биомассу *Fusarium solani* и *Erwinia carotovora* (болезни, вызываемые сухой и мягкой гнилью клубней картофеля), где масло мяты перечной было наиболее эффективным против *F. solani* и имело самый низкий МИК, в то время как масло лемонграсса дало самое низкое значение МИК по отношению к *E. carotovora*. Обработка хранящихся клубней картофеля испытанными эфирными маслами (при значениях МИК) была успешной в борьбе с болезнями сухой и мягкой гнили соответственно. Эти результаты были получены для инокулированных и неинокулированных клубней в течение всех периодов хранения (10, 20, 30 и 60 дней) (Abu et al., 2015).

Эфирные масла фенхеля, мяты перечной и тмина были приготовлены в виде эмульгируемых концентратов. Были приготовлены различные концентрации рецептурных масел. Полученные концентрации были протестированы *in vivo* на их ингибирующую активность в отношении роста *Fusarium oxysporum* (случайного возбудителя сухой гнили на картофеле). Результаты показали, что различные концентрации масел фенхеля, мяты перечной и тмина в рецептуре обладают высокой токсичностью по отношению к инокулированному грибов. Кроме того, все составленные масла в различных формах показали высокую активность в борьбе с гнилью при применении в качестве защитных и терапевтических средств (Mahmoud et al., 2010).

Хотя в некоторых исследованиях сообщается о антифунгальной активности эфирных масел, механизмы действия таких масел изучены слабо. Однако некоторые исследователи сообщили, что существует связь между химической структурой наиболее распространенных соединений в эфирных маслах и антимикробной активностью. По данным Faïd et al. (1996), антимикробная активность основных соединений масел располагается в следующем порядке: фенолы (наибольшая активность) > спирты > альдегиды > кетоны > простые эфиры > углеводороды.

1.2.2. Экстракты растений

Экстракты растений обычно содержат многие активные вещества, в том числе фенольные соединения, такие как фенолы и флавоноиды (Cowan, 1999), которые являются потенциальными антимикробными агентами. Многие экстракты из различных растений были исследованы на предмет их антимикробной активности в отношении бактерий и грибов. Одной из потенциально полезных альтернатив дорогим и, возможно, токсичным фунгицидам может быть использование растительных экстрактов. Они представили очень многообещающие результаты по борьбе с патогенами растений (Thangavelu et al., 2004).

Среди флоры Нижнего Поволжья и Каспийского региона широко распространен тополь черный *Populus nigra* L. Тополь черный довольно полно описан в монографии «Флора Нижнего Поволжья». При изучении антимикробных свойств многих экстрактов, в том числе из почек тополя черного (*P. nigra*), тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) и тополя канадского (*Populus deltoids* Marsh), некоторые авторы обнаруживают флавоноиды, в частности пиноцембрин и пиностробин – главные компоненты данных растений (Браславский, 1994).

Некоторыми авторами было отмечено высокое содержание в почках тополя бальзамического пиностробина – одного из основных биологически активных антимикробных соединений почек тополя черного, который является

перспективным источником антимикробных и антифунгальных лекарственных средств (Адекенов и др., 2021). Авторы считают, что почки тополя могут являться источником антибактериальных и ангифунгальных лекарственных средств могут применяться в медицине и народном хозяйстве (Браславский et al., 1991; Сухенко, 2017; Сухенко и др., 2023).

Анализ этанолового экстракта листьев тополя зафиксировал высокое содержание противомикробных препаратов в весенний сезон. Между тем, осенний тополь снижает уровень химического состава и активности биологически активных веществ листьев. Это исследование показало противовирусное влияние различных концентраций БАВ (25–50% и 100%) экстрактов листьев тополя на параметры роста здорового и зараженного вирусом перца при внекорневой подкормке, обработанные после 20 и 40 дней после пересадки перца. Экспериментальные данные зафиксировали, что экстракт листьев весеннего тополя оказал значительное влияние на рост инфицированного перца и формирование плодов (Gharib and Mandour, 2022).

1.3. Необходимость инкапсуляции эфирных масел

Использование эфирных масел в качестве консервантов, представляет собой новую возможность для пищевой промышленности (Devlieghere et al. (2004). Однако эфирные масла имеют различные ограничения, которые препятствуют их применению в пищевых продуктах. Эти соединения относительно нестабильны и быстро деградируют при хранении. Соответственно, инкапсуляция эфирных масел может способствовать установлению надлежащего баланса между их стабильностью и антимикробной эффективностью. Технология инкапсуляции обеспечивает защиту растительных БАВ от химического разрушения, контролируемое и целенаправленное высвобождение инкапсулированных растительных биологически активных веществ (Vinceković et al., 2021). Некоторые биополимеры обладают значительным потенциалом в отношении комплексообразования и инкапсуляции БАВ, где наиболее активным биополимером считается хитозан (De Farias, et al., 2018).

1.4. Хитозан

Хитозан, линейный полисахарид, является продуктом N-деацетилирования хитина, побочного продукта переработки моллюсков. Хитозан может быть получен щелочным деацетилированием хитина из различных видов ракообразных. Хитозан содержит ряд полимеров с различными соотношениями глюкозаминовых и N-ацетилглюкозаминовых звеньев через β (1–4) связь (Şenel and McClure, 2004).

Амино- и гидроксильные реакционноспособные функциональные группы (одна первичная и одна вторичная) придают хитозану существенные свойства, которые полезны для различных применений и имеют достаточную доступность для химических реакций. С другой стороны, физические и химические свойства хитозана, такие как внутри- и межмолекулярные водородные связи и катионный заряд в кислых средах, делают этот полимер более привлекательным для разработки традиционного и нового фармацевтического продукта (Kas, 1997).

Однако недавний коммерческий интерес к хитозану в основном связан с пищевой промышленностью (Aider, 2010) из-за биологических и химических свойств этого полимера. Среди его преимуществ: получение из природных источников, биоразлагаемость, биосовместимость, нетоксичность, поликатионные свойства (Muzzarelli, 2010), низкая стоимость производства и антимикробные свойства.

Сообщалось, что хитозан обладает антимикробной активностью в отношении пищевых грибов и бактерий, при этом минимальная ингибирующая концентрация (МИК) варьируется от 0,01% до 5%, в зависимости от источника хитозана, плотности заряда, молекулярной массы, степени деацетилирования, pH, температуры, ионная сила, концентрация, производные хитозана, комплексы с некоторыми материалами, тип микроорганизмов и компоненты пищи (Kong et al., 2010; Hosseinnnejad and Jafari, 2016).

До настоящего времени было предложено четыре модели для объяснения антимикробной активности хитозана (Goy et al., 2009; Hosseinnejad and Jafari, 2016), это: 1) электростатическое взаимодействие положительно заряженных молекул хитозана с отрицательно заряженными мембранами микробных клеток, вызывающее изменение проницаемости мембран и гидролиз пептидогликанов в стенке микроорганизма. Это самый приемлемый; 2) проникновение хитозана в ядра микроорганизмов приводит к связыванию хитозана с микробными ДНК и ее компоненты предотвращают трансформацию РНК и синтез белка; 3) хелатирование хитозана металлами, подавление спор и связывание с основными питательными веществами подавляют рост микробов; 4) хитозан образует полимерную мембрану на поверхности клетки, эта мембрана может препятствовать проникновению питательных веществ в клетку или блокировать доступ кислорода к клеткам, что может препятствовать росту аэробных бактерий. Хитозан - отличный полимер для образования биопленки. Поэтому он широко используется для формирования биопленок. Пленки, состоящие из хитозана, продлевают срок хранения фруктов (Jongsri et al., 2016) и овощей (Bilbao-Sainz et al., 2016).

Антифунгальная активность хитозана была протестирована против нескольких микроорганизмов (Bautista-Baños et al., 2006; Velázquez-del Valle et al., 2012), и было показано, что он ингибирует рост *A. alternata* (Sánchez-Domínguez et al., 2011). В предыдущих исследованиях было показано, что применение хитозана влияет на рост, морфологию и выработку токсина *A. alternata* f. sp. *lycopersici*, возбудителя черной плесневой гнили томатов (Reddy et al., 1998). Точно так же Reddy et al. (2000) сообщили, что применение хитозана ингибирует на 34% развитие *A. alternata* на стеблях томата, хранящихся при 20°C в течение 28 дней, и снижает выработку грибом патогенных факторов, таких как ферменты, разрушающие клеточную стенку (полигалактуроназы, пектацелиаза и целлюлаза), органические кислоты и специфичные токсины, ответственные за повреждение тканей и проникновение грибов в организм хозяина. Кроме того, авто-

ры обнаружили, что хитозан индуцирует выработку фитоалексина у растения-хозяина в качестве естественной защиты.

В другом исследовании сообщалось, что хитозан со средней молекулярной массой 2,5% в среде картофельно-декстрозного агара ингибировал рост мицелия *A. alternata* до 50,6% в условиях *in vitro* (Sánchez-Domínguez et al., 2007). В аналогичном исследовании López et al. (2013) установили, что использование низкомолекулярного хитозана в концентрации 1,0 % снижало рост мицелия и спороношение *A. alternata* до 70 % и полностью ингибировало прорастание конидиев в условиях *in vitro*. Кроме того, авторами установлено отсутствие фунгицидного действия хитозана при непосредственном нанесении на плоды.

Антифунгальные эффекты хитозана связаны, среди прочего, с уровнем его деацетилирования, концентрацией и степенью полимеризации. Этот полимер имеет различные механизмы действия для ингибирования фитопатогенных грибов и предотвращения грибных заболеваний (Meng et al., 2010). В нескольких работах описаны морфологические изменения, вызванные хитозаном в гифах и репродуктивных структурах грибов. Сканирующее электронное исследование ультрасрезов гиф и конидий *A. alternata*, обработанных хитозаном, выявило заметные изменения в клеточной стенке. Обработанный хитозаном мицелий демонстрировал преимущественно разрыхление клеточных стенок, а на некоторых участках наблюдался лизис. Конидии, подвергшиеся воздействию хитозана, были сильно повреждены, обычно с эрозией и в некоторых случаях с разрушенными клеточными стенками без цитоплазмы (Sánchez-Domínguez et al., 2007). В других микроскопических исследованиях Sánchez-Domínguez et al. (2011) наблюдали значительное повреждение грибных клеток, такое как распад клеток, ретракция плазматической мембраны, заметное увеличение вакуолизации, высвобождение апикальной части конидий и лизис клеток, среди других эффектов. Аналогичные результаты были получены López et al. (2013), которые обнаружили интенсивную и широкую вакуолизацию мицелия и конидий, утечку цитоплазматического содержимого и наличие фибриллярного материала у

штаммов *A. alternata* при применении низкомолекулярного хитозана в концентрации 1,0%.

Антимикробная активность хитозана, по-видимому, зависит от электростатических взаимодействий между положительными зарядами хитозана и отрицательно заряженными фосфолипидами плазматической мембраны, которые интегрируют грибную мембрану. Было замечено, что хитозан сначала связывается с поверхностью мембраны-мишени и покрывает ее, а на втором этапе, после достижения пороговой концентрации, хитозан вызывает пермеабилизацию мембраны и высвобождение клеточного содержимого (Palma-Guerrero et al., 2010).

1.5. Инкапсуляция растительных биологически активных веществ (эфирных масел и других)

В контексте инкапсуляции, нанокапсулы, как характерный класс наночастиц, состоят из внешней полости, состоящей из полимерной мембраны, и внутренней части, состоящей из жидкой или полимерной матрицы, содержащей активное соединение (Fang and Bhandari, 2010; Mora-Huertas et al., 2010).

Также большое значение имеет выбор подходящего метода получения нанокапсул с желаемыми характеристиками и функциональностью. Выбранный метод будет зависеть от физико-химических свойств полимера, инкапсулированного биоактивного соединения и желаемых свойств нанокапсулы (размер и распределение частиц, площадь поверхности, форма, растворимость, эффективность инкапсуляции и механизм высвобождения) (Rao and Geckeler, 2011; Ezhilarasi et al., 2013).

Что касается физико-химических характеристик полимера, в процессе наноинкапсуляции использовались различные материалы, поскольку отдельные методы инкапсуляции можно адаптировать ко всем применениям используемого продукта или материала стенки (Bakan, 1975). В этом смысле состав полимера (поверхностный заряд, гидрофобность и профиль биodeградации) наноча-

стиц и связанных с ними биоактивных соединений (молекулярная масса, заряд, расположение наносфер при адсорбции или включении) оказывает большое влияние на абсорбцию соединения, биораспределение, паттерн и элиминация (Reis et al., 2006). Кроме того, большой интерес вызвали полимерные коллоидные наночастицы, полученные из полисахаридов, липидов и биополимеров из природных источников. Взаимодействие между катионными и анионными биоразлагаемыми биополимерами приводит к образованию полианионных гидрогелей, которые продемонстрировали благоприятные характеристики для захвата и высвобождения активного соединения. Одним из наиболее широко изученных катионных биополимеров является хитозан (Douglas, Tabrizian, 2005).

Наночастицы хитозана были впервые описаны в 1994 г., когда Ohya et al. (1994) предложили внутривенное введение 5-фторурацила, противоракового препарата, с использованием наночастиц хитозана в качестве системы-носителя, эти частицы были получены путем эмульгирования и гелеобразования.

Для получения микро- и наночастиц хитозана использовались различные методы. Выбор правильного метода зависит от таких факторов, как требования к размеру частиц, профиль контролируемого высвобождения, стабильность микро- или наноинкапсулированного продукта и потенциальная остаточная токсичность, связанная с конечным продуктом. В настоящее время доступны различные методы инкапсуляции, которые можно классифицировать следующим образом (Munin and Edwards-Le'vy, 2011; Mahdavi et al., 2014):

- 1- Физические методы: распылительная сушка, покрытие в псевдооживленном слое, экструзия, центробежная экструзия, сверхкритические жидкости;
- 2- Физико-химические методы: гелеобразование, ионное гелеобразование, покрытие горячим расплавом, экстракция выпариванием растворителя, коацервация;
- 3- Химические методы: межфазная полимеризация, межфазная поликонденсация, межфазная сшивка, полимеризация на месте.

1.5.1. Ионное гелеобразование

Существует несколько предложенных методов получения наночастиц хитозана, основанных на самопроизвольном образовании комплексов между полисахаридом хитозаном и различными полианионами. Наночастицы хитозана, полученные с помощью ионного гелеобразования, вызывают большой интерес, поскольку это простой и плавный процесс, нетоксичный, не содержащий органических растворителей, контролируемый и используемый в качестве средства введения низкомолекулярных лекарств (Jafarinejad et al., 2012; Белоконь, 2017).

Полианионы для ионного гелеобразования (также называемые ионотропными) можно разделить на три типа: (a) низкомолекулярные полианионы (например, пирофосфат натрия, триполифосфат натрия (ТПФ), тетраполифосфат, октаполифосфат, гексаметафосфат); (b) гидрофобные полианионы (например, альгинат натрия); (c) высокомолекулярные ионы (например, октилсульфат, додецилсульфат, гексадецилсульфат). ТПФ часто используется для получения наночастиц хитозана, поскольку ТПФ нетоксичен, многовалентен и способен образовывать гели за счет ионных взаимодействий сшивания. Взаимодействие может контролироваться плотностью заряда ТПФ и хитозана, которая зависит от pH раствора (Zhao et al., 2011). В связи с этим известно, что сшивку можно проводить в кислой, нейтральной или щелочной среде в зависимости от используемого метода.

Несколько исследований указывают на высокий потенциал наночастиц хитозана, полученных методом ионного гелеобразования, для включения различных типов биоактивных веществ различными способами (рисунок 5). Существуют различные категории биологически активных веществ, которые связаны с наночастицами хитозана: i) гидрофильные молекулы, ii) гидрофобные молекулы и iii) макромолекулы. Эти биологически активные соединения могут просто внедряться за счет физических и обратимых взаимодействий (водородные связи, силы Ван-дер-Ваальса, гидрофобные эффекты, электростатические взаимодействия, рисунок 5 А), а также могут быть адсорбированы на поверхности

наночастиц хитозана (рисунок 5 В). Другой способ связывания лекарств с наночастицами — использование сшивающего агента для прочного связывания частиц с полимерными цепями ковалентными и необратимыми связями (рисунок 5 С).

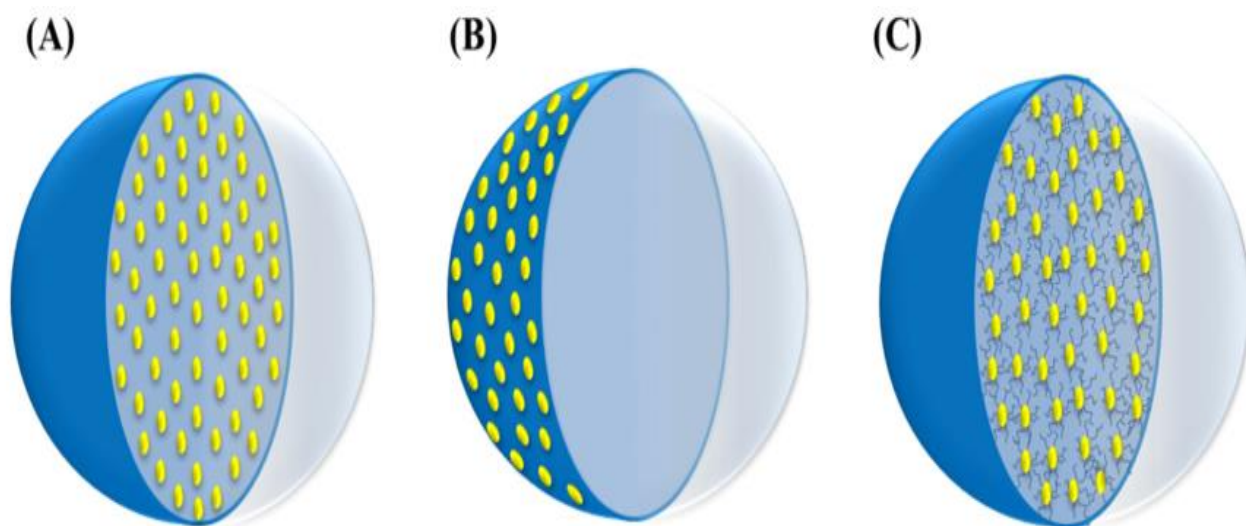


Рисунок 5 - Схематическое изображение различных способов интеграции биоактивных веществ в наночастицы за счет: (А) физического захвата внутри полимерной матрицы в процессе синтеза наночастиц, (В) адсорбции на поверхности наночастиц, (С) ковалентных связей между цепями хитозана и биологически активными веществами. (Bugnicourt and Ladavière, 2016).

Несколько авторов изучали влияние нескольких факторов, таких как молекулярная масса и концентрация хитозана, концентрация полианиона ТПФ, pH, тип и концентрация инкапсулируемого биоактивного соединения (Hans and Lowman, 2002; Amidi et al., 2006). Tang et al., (2007) изучали влияние таких факторов, как молекулярная масса и концентрация хитозана, концентрация ТПФ и pH раствора на размер наночастиц хитозана, используемых для иммобилизации протеолитического фермента. В результате они наблюдали постепенное увеличение размера частиц за счет увеличения молекулярной массы хитозана, объясняя это тем, что хитозан с более высокой молекулярной массой взаимодействует с ТПФ более эффективно, чем хитозан с более низкой молекулярной массой. Кроме того, хитозан с более высокой молекулярной массой менее растворим, и

поэтому было получено увеличение диаметра частиц. Минимальный размер полученных частиц составил 42 ± 5 нм при оптимальных условиях иммобилизации (1 мг нейтральной протеиназы иммобилизовали в течение 15 мин при 40°C , что дало выход ферментативной активности 84,3%). Yang and Hon (2009) получили аналогичные результаты при получении наночастиц размером 70,6 нм с использованием хитозана с молекулярной массой 55 кДа.

Соответственно, Gan et al. (2005) разработали наночастицы хитозан-ТПФ, где они наблюдали увеличение размера и дзета-потенциала частицы в простой линейной зависимости за счет увеличения доли хитозан-ТПФ. Кроме того, они демонстрировали высокий положительный поверхностный заряд в широком диапазоне pH ниже изоэлектрической точки 9, что объясняется главным образом наличием положительно заряженных аминок групп. Значение pH раствора и концентрация хитозана также влияли на стабильность системы наночастиц, а концентрации хитозана для спонтанного образования агрегатов частиц составляли 0,65%, 0,25% и 0,15% (вес/объем) при pH 4 и 1,00%, 0,85% и 0,75% (вес/объем) при pH 5,0 для хитозана с низким, средним и высоким молекулярным весом соответственно. Поскольку хитозан может быть диспергирован или солюбилизирован только при кислых значениях pH, в молекулу были внесены химические модификации, такие как реакция кватернизации, которая заставляет полимер улучшать свою растворимость в широком диапазоне pH, тем самым достигая большего контроля над его катионными свойствами. (Wang et al., 2009).

Также было замечено, что при $\text{pH} < 4$ нагрузка ТПФ падает ниже 3, что снижает его сшивающую способность; а при $\text{pH} > 6$ плотность заряда и интенсивность электрических взаимодействий уменьшаются, а следовательно, снижается и его растворимость в воде (Guo et al., 2007; Layek, Nandi, 2013; Fuciños et al., 2014). Nasti et al., (2009) показали, что временное воздействие на наночастицы более высокого pH может вызвать некоторую агрегацию хитозана, увеличивая количество ядер, доступных для роста наночастиц (при более высокой скорости ядра будут присутствовать более мелкие частицы). Они получили не-

большие наночастицы размером ≤ 200 нм, которые позже были покрыты гиалуроновой кислотой, и наночастицы большего размера 200–400 нм, которые использовались в качестве контроля для наночастиц, покрытых гиалуроновой кислотой, с аналогичными размерами. но разные свойства поверхности.

Еще одним важным параметром является взаимосвязь между свободными аминогруппами на поверхности и характеристиками наночастиц хитозана, полученных методом ионного гелеобразования (Szymańska and Winnicka, 2015). Lin et al. (2007) сообщили, что при увеличении pH в наночастицах хитозана свободные аминогруппы могут быть депротонированы, тем самым уменьшая размер частиц и дзета-потенциал. С другой стороны, они заметили, что на количество и уровень ионизации свободных аминогрупп на поверхности влияют степень гелеобразования и pH.

Что касается влияния количества полианиона на частицы, Bao et al. (2008) утверждают, что при использовании слишком большого количества ТПФ усиливаются электростатические взаимодействия, что способствует увеличению размеров частиц.

Контролируемое высвобождение противомикробных агентов из нанокапсул - Доставка биоактивных соединений (например, противомикробных агентов) точно и безопасно в нужный период времени в целевую систему для достижения контролируемого высвобождения является критерием в дизайне и разработке нанокапсул. Высвобождение осуществляется одним или комбинацией трех различных механизмов, включая (1) диффузию, (2) эрозию и (3) набухание (Fathi et al., 2012). Для наноинкапсуляции на основе липидов более вероятен первый механизм (диффузия), в то время как последние два механизма больше связаны с наноносителями на гидрофильной основе (белки и полисахариды).

Триггерное высвобождение — это взрывное высвобождение инкапсулированного соединения из наносистем, реагирующих на различные внутренние и внешние изменения, такие как pH, специфические ферменты, температура, ультразвук, свет и т. д. (Esser-Kahn et al., 2011). Относительная влажность в упа-

ковке свежесрезанных помидоров также была продемонстрирована как триггер для высвобождения антимикробного чесночного масла из капсул β -циклодекстрина для уменьшения роста микробов (Ayala-Zavala and Gonza'lez-Aguilar, 2010). Колебания pH, связанные с ростом бактерий, таких как *S. epidermidis*, использовались в качестве внутреннего триггера pH для высвобождения антимикробных агентов из гидрогелей (Pavlukhina et al., 2010).

1.5.2. Перспективы использования инкапсулированных эфирных масел

Растущие потребности в замене синтетических консервантов в пищевой промышленности привели к растущему интересу к применению эфирных масел в качестве натуральных альтернатив для консервирования пищевых продуктов. Многие эфирные масла и их отдельные компоненты считаются «общепризнанными безопасными» (GRAS) в дозах, обычно используемых в пищевых продуктах (Burt, 2004), и были одобрены Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов для использования в пищевых продуктах. Кроме того, многие эфирные масла проявляют положительный эффект в борьбе с широким спектром патогенных бактерий, вызывающих порчу, связанных с пищевыми продуктами. Полисахариды и/или белковые стенки, нагруженные ЭМ в составе антибактериальных покрытий, привлекли значительное внимание к использованию во фруктах и овощах. ЭМ в пищевых покрытиях постоянно высвобождаются на поверхность овощей и фруктов, повышая микробную безопасность и минимально влияя на органолептические характеристики свежих овощей и фруктов.

Использование покрытия оказывает положительное влияние на сохранность фруктов и овощей. Рост грибов аэробный и чувствителен к CO_2 . Снижение кислород-проницаемости, накопление CO_2 в атмосфере, окружающей плоды, и антимикробные свойства эфирных масел могут замедлять рост грибов в покрытых оболочкой ягодах во время хранения (Aloui, et al., 2014). Потеря веса всех образцов постепенно увеличивалась в зависимости от времени хранения

из-за потери воды, вызванной процессами испарения, транспирации и дыхания. Однако распределение липидов в покрытиях влияет на барьерные свойства и, следовательно, на перенос влаги. Потеря веса в результате метаболической активности и старения тканей при длительном хранении замедляется после нанесения покрытия (Sanchez-Gonzalez, et al., 2011). Снижение плотности связано со старением тканей и разрушением клеточных стенок, а также с потерей воды в образце (Toivonen and Brummell, 2008). Многие исследователи сообщают о хорошей корреляции между потерей веса и твердостью (Navarro-Tarazaga, et al., 2011). В предыдущих исследованиях сообщалось о положительном влиянии обработки покрытия на некоторые качественные характеристики: цвет, pH, общее количество растворимых сухих веществ, титруемую кислотность (Etemadipoor, et al., 2019), общее количество фенолов, содержание хлорофиллов, содержание каротиноидов, общее приемлемость (Xiao, et al., 2010) и ингибирование ферментативного потемнения (Gago, et al., 2020; Ху, et al., 2020).

Sanchez-Gonzalez, et al., (2011) наносили покрытия, состоящие из хитозана и гидроксипропилметилцеллюлозы с эфирным маслом бергамота, на виноград, хранящийся в холодильнике. В этом исследовании микрокапсулированное эфирное масло бергамота улучшило потерю веса, твердость фруктов и их потемнение, а также способствовало небольшому снижению частоты дыхания. Более того, рост плесени, дрожжей и мезофилов ингибировался на покрытом оболочкой винограде в течение всего периода хранения.

Nasheminejad, Khodaiyan (2020) получили аналогичные результаты, и их влияние на срок годности и качество минимально обработанных зерен граната было исследовано при хранении в холодильнике (5°C). Арили с покрытием были защищены от нежелательных физико-химических и органолептических изменений. Общая популяция дрожжей и плесени в образцах с покрытием была значительно снижена по сравнению с образцами без покрытия. Непокрытые арили демонстрировали грибное разложение после 18 дней хранения в холодильнике, в то время как гниение было отсрочено до 60-го дня хранения для арилов с покрытием. Buendia-Moreno et al., (2019) покрыли инкапсуляцию β-

циклодекстринов, обогащенных карвакролом, орегано и корицей масла (70:10:20 вес: вес: вес) на внутренней поверхности активного картонного лотка, и оценили качества томатов черри в мелованном картоне в течение 24 суток хранения при температуре 8°C.

Твердость и цвет помидоров черри, хранящихся в обработанном активном картонном лотке, сохранялись более оптимальными по сравнению с контролем; контролируемое высвобождение эфирных масел продлило срок годности с 20 до 24 дней при 8°C. Результаты вышеупомянутых исследований предоставляют дополнительные доказательства потенциальной полезности микрокапсул ЭМ для поддержания свежести продуктов. Наночастицы потенциально могут защищать эфирное масло от окисления или испарения, а также усиливать его антимикробную активность, обеспечивая разнообразные диффузионные свойства через биологические мембраны за счет наноразмерных частиц (Pedro et al., 2013).

Таким образом, биополимеры в сочетании с эфирными маслами могут давать активные материалы покрытия, которые можно использовать в качестве безопасных консервантов. Поэтому ЭМ инкапсулируют для контроля нежелательных органолептических изменений при одновременном продлении срока годности свежих сельскохозяйственных продуктов.

Антимикробные микрокапсулы также можно разводить в воде и использовать для мытья инокулированных овощей и фруктов в качестве альтернативных моющих растворов (Ayala-Zavala and Gonza'lez-Aguilar, 2010; Zhang et al., 2016). Для использования в пищевых упаковках и покрытиях оценка покрытий или пленок, содержащих микрокапсулы, может быть выполнена путем погружения инокулированных пищевых систем в пленкообразующие растворы, распыления пленкообразующих растворов на поверхность пищевых продуктов или упаковки пищевых продуктов. пища с пленками (Huang et al., 2012; Brasil et al., 2012).

Разрабатываются многообещающие предложения с использованием технологии микрокапсулирования для повышения эффективности противомикроб-

ных препаратов в пищевых продуктах. Цели использования метода наноинкапсуляции включают следующие четыре причины:

1. Стабилизировать летучие антимикробные вещества, например, эфирные масла, от испарения во время обработки;
2. Уменьшить взаимодействие противомикробных препаратов с пищевыми матрицами;
3. Контролировать скорость высвобождения противомикробных препаратов в пищевых матрицах, чтобы продлить воздействие противомикробных препаратов на микробах;
4. Улучшить растворимость противомикробных препаратов в нежелательных пищевых продуктах, чтобы расширить применение противомикробных препаратов (Jafari, 2017).

В зависимости от их химического состава и структуры были предложены различные механизмы антимикробной активности инкапсулированных эфирных масел (рисунок 6) (Yammine et al., 2022). Первоначально их механизмы действия были ограничены разрушением цитоплазматических мембран клеток, но недавно были предложены дополнительные механизмы. Механизм действия нескольких эфирных масел и их фенольных соединений был в основном связан с их прикреплением и дестабилизацией клеточных мембран бактерий. Сообщалось, что благодаря своей липофильной природе эфирные масла и их активные компоненты легко проникают и накапливаются в липидном бислое цитоплазматических мембран. Они выстраиваются между цепочками жирных кислот клеточных мембран, вызывая дестабилизацию и деградацию различных ее слоев путем инактивации ферментативных механизмов или разрушения системы переноса электронов (Swamy et al., 2016; Bhavaniramya et al., 2019). Впоследствии это приводит к нарушению целостности фосфолипидного бислоя и увеличению его проницаемости. Повышенная проницаемость способствует проникновению антимикробных агентов, нарушает нормальную клеточную функцию и приводит к утечке жизненно важного внутриклеточного содержимого (ионов, белков, нуклеиновых кислот), нарушению протонной движущей

силы, снижению мембранного потенциала и истощению аденозинтрифосфата (АТФ) (Pathania et al., 2018).

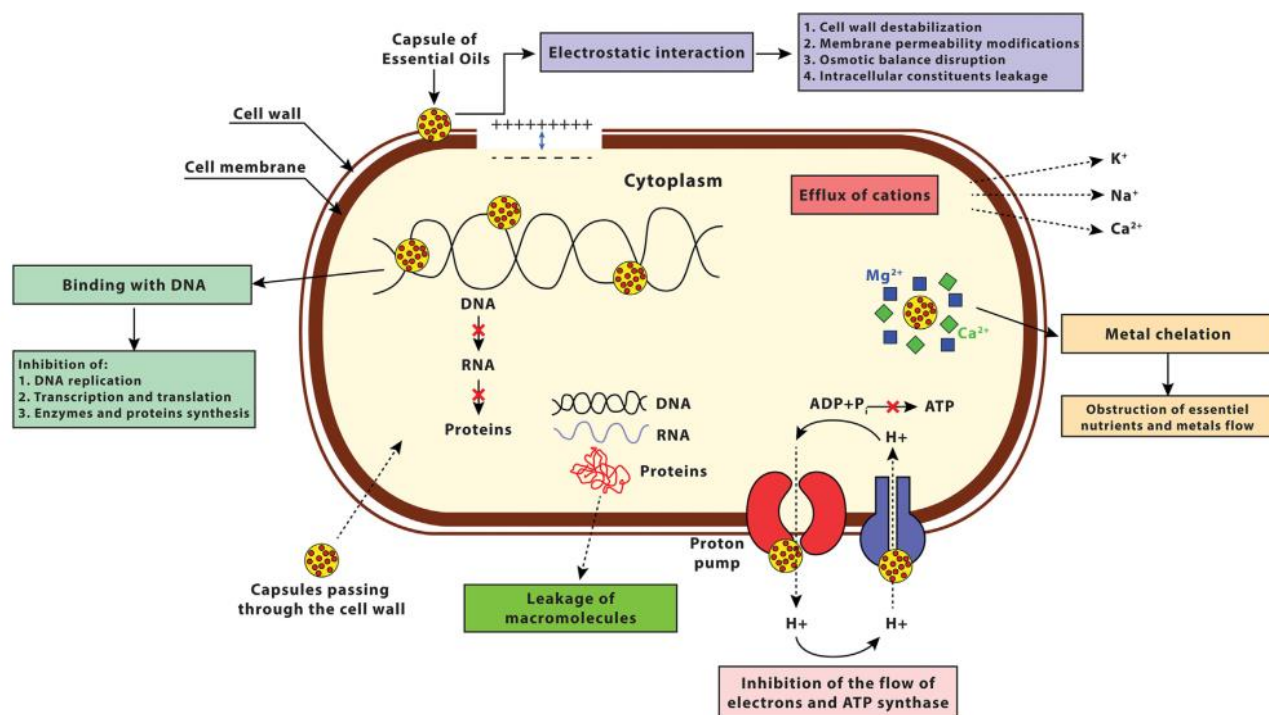


Рисунок 6 - Различные антимикробные механизмы действия инкапсулированных эфирных масел (Yamine et al., 2022).

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, г. Астрахань, Нижневолжский регион РФ), Собирали образцы клубней картофеля, выращенного при естественном заражении на полях в разных районах Астраханской области (Лиманский район, Харабалинский район, Приволжский район и Камызякский район).

Астраханская область расположена на юго-востоке Европейской равнины. Территория области вытянута с юго-востока на северо-запад почти на 400 км. С запада на восток ее ширина составляет около 60 км. Область граничит на севере с Волгоградской областью, на западе – с Республикой Калмыкия, на юге омывается Каспийским морем, на востоке граничит с Казахстаном. Площадь Астраханской области составляет около 441 тыс. км² [Агроклиматические ресурсы Астраханской области, 1974]. Земельный фонд на 01.01.1997 г. составляет 5284,4 тыс. га (Челобанов, 1998).

2.1. Климатические условия

В годы исследований (2020–2022.) метеорологические условия характеризовались острой нехваткой влаги и высокими температурами, характерными для этого региона. Средняя температура воздуха в течение вегетационного периода составляла 21,1°C. Самая высокая температура наблюдалась в июле 28,3°C (рисунок 7.1). Влажность в среднем за три года исследований составлял 51,2 % (рис 7.2). Количество осадков в течение вегетационного периода составляло в среднем 50,2 мм (рисунок 7.3) (ООО «Расписание Погоды» gr5.ru).

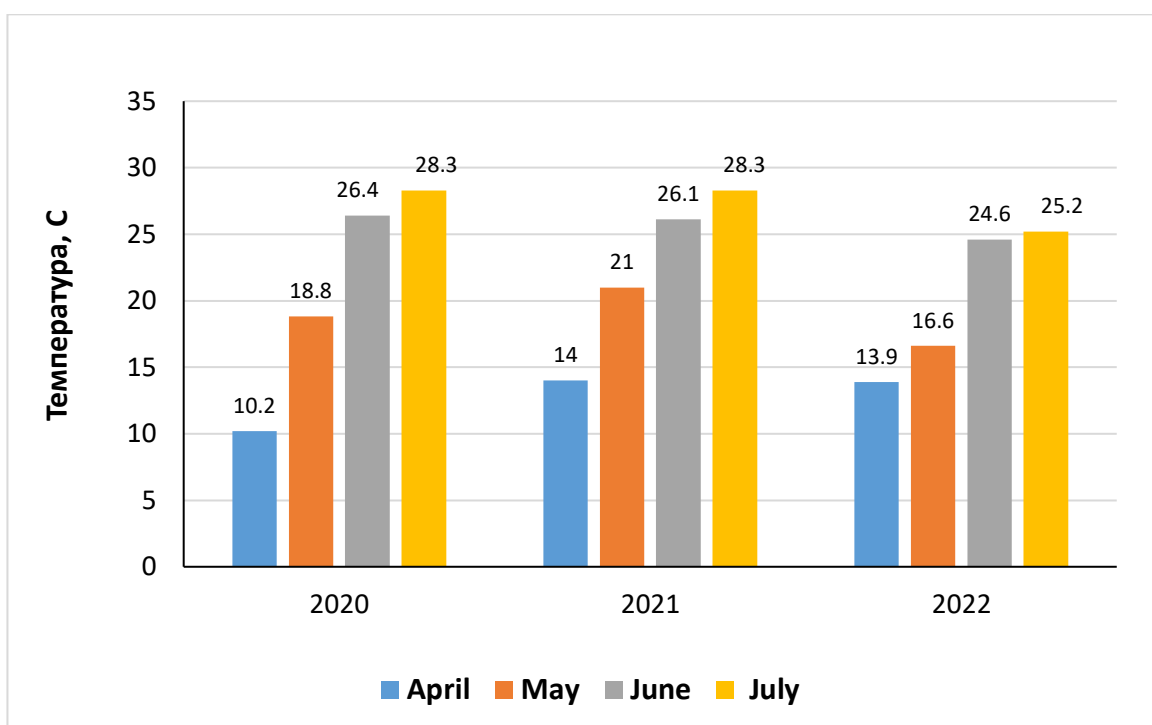


Рисунок 7.1 - Температура воздуха (°C) в период вегетации

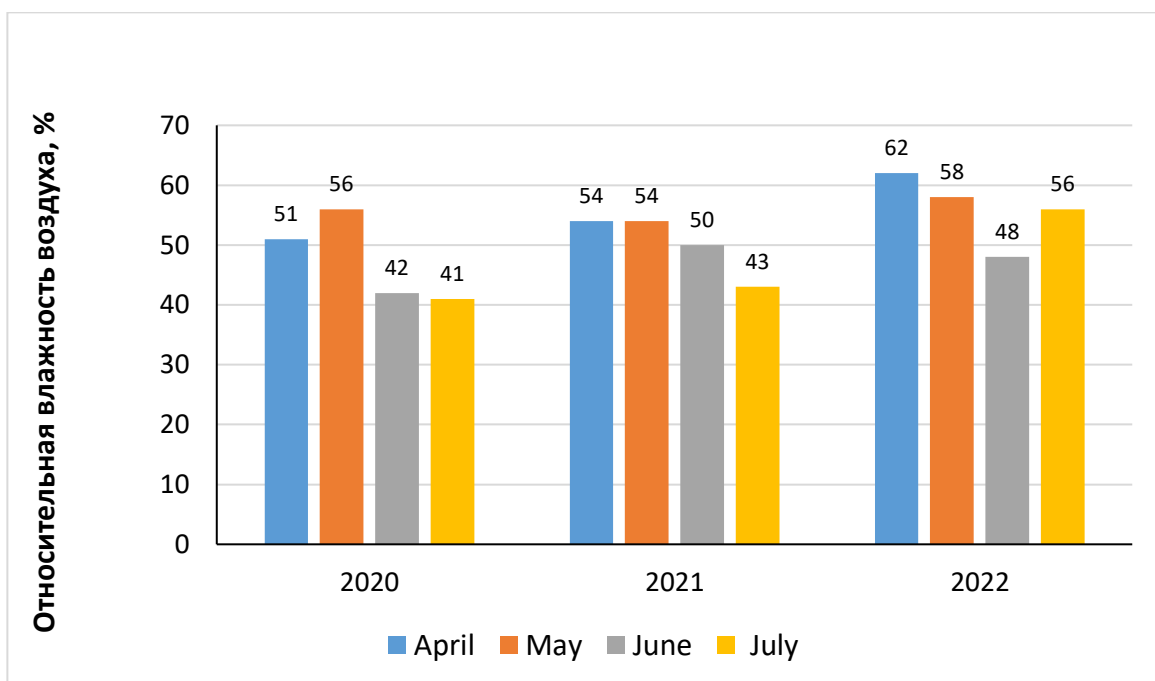


Рисунок 7.2 - Относительная влажность воздуха (%) в период вегетации

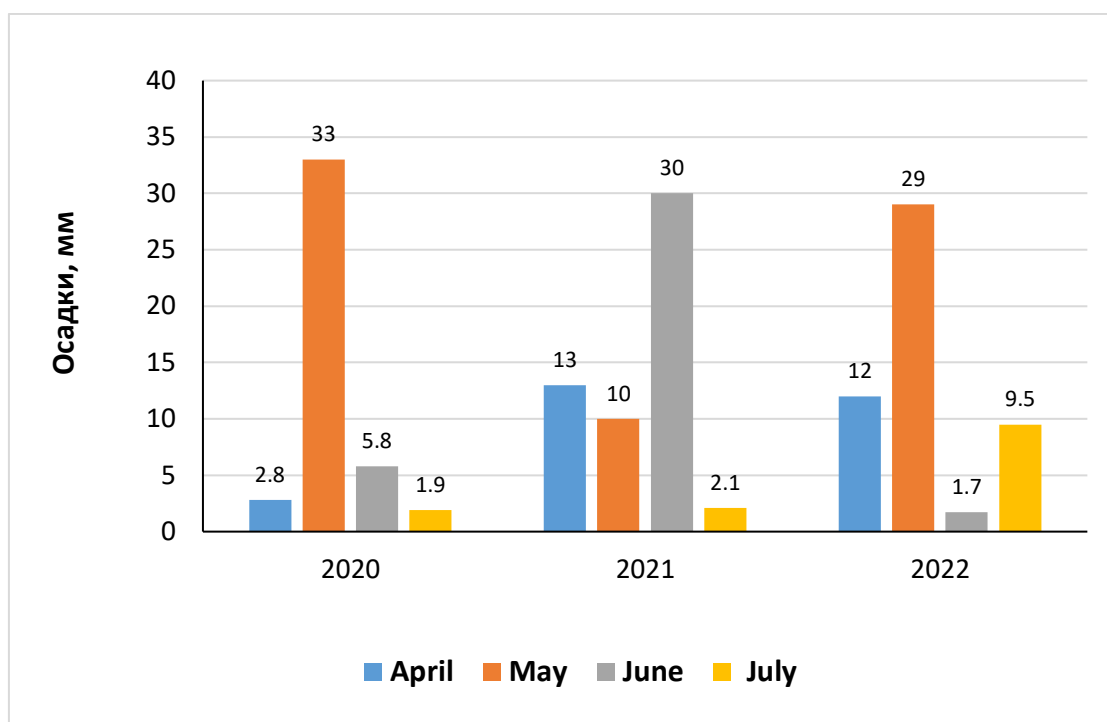


Рисунок 7.3 - Количество осадков (мм) в период вегетации

2.2 Объекты и материалы исследований

Объектами исследования являлись клубни картофеля сортов Ривьера, Ред Скарлет, Гала и Аризона. Характеристики сортов картофеля представлены в таблице 1 и 2. В исследовании использовали выделяемые изоляты грибов *Fusarium* sp. и *Alternaria* sp., которые были выделены из пораженных клубней картофеля (рисунок 8, 9) в Астраханской области, и затем, поддерживали на искусственной питательной среде картофельно-декстрозном агаре (КДА), и пересевали каждые 3–4 недели.

Таблица 1 – Характеристика сортов картофеля по хозяйственно-полезным признакам

№	Сорт	Срок созревания	Форма клубней	Цвет кожуры	Цвет мякоти	Устойчивость к болезням	
						фитофтороз	Рак картофеля
1	Ривьера	3	Ов	Крем	Крем	-	+

2	Ред Скарлет	3	Уд-Ов	Крас	Ж	4	+
3	Гала	4	Уд-Ов	Ж	Ж	3	+
4	Аризона	4	Уд-Ов	Ж	Св-Ж	6	9

Примечание: условные обозначения приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Основные показатели оценки сортов картофеля, балл

Показатель	Балл
Срок созревания	3 – ранний (раннеспелый) (70–80 дней), 4 – среднеранний (80–90 дней)
Форма клубней	Ов – овальный; Уд-Ов – удлиненно овальный
Цвет кожуры	Ж – желтый; Св-Ж – светло желтый; Крем – кремовый; Крас – красный
Цвет мякоти	Ж – желтый; Св-Ж – светло желтый; Крем – кремовый; Крас – красный
Устойчивость к болезням	1–3 - восприимчив, 4–5 - умеренно восприимчив, 6–7 - умеренно устойчив, 8–9 -устойчив

Симптомами сухой фузариозной гнили обычно являются темные углубления на поверхности клубня. При больших поражениях кожура становится морщинистой и на ней разрастается грибница (рисунок 8 А, Б, В). Внутренние симптомы характеризуются участками некроза от светлого до темно-коричневого или черного цвета. Эта некротическая ткань обычно сухая гнилые полости часто выстланы мицелием и спорами различной окраски от желтой до белой и розовой (рисунок 8 Г, Д, Е). При исследовании патогенности симптомы начали проявляться на клубнях через 72 часа после заражения патогеном. Симптомы желто-красноватого цвета наблюдались на клубне и распространялись от центра наружу. Трещины и затонувшие клубни наблюдались на более поздних стадиях (через 2 недели). Повторная изоляция была проведена из пораженной ткани клубня. *Fusarium* sp. был только выделен.

Симптомы альтернариозной гнили на клубнях обычно бывают круглыми или неправильной формы и слегка впалыми, часто окруженными приподнятой темно-коричневой каймой. Нижележащие ткани имеют текстуру от кожистой

до пробковой (рисунок 9 А, Б).

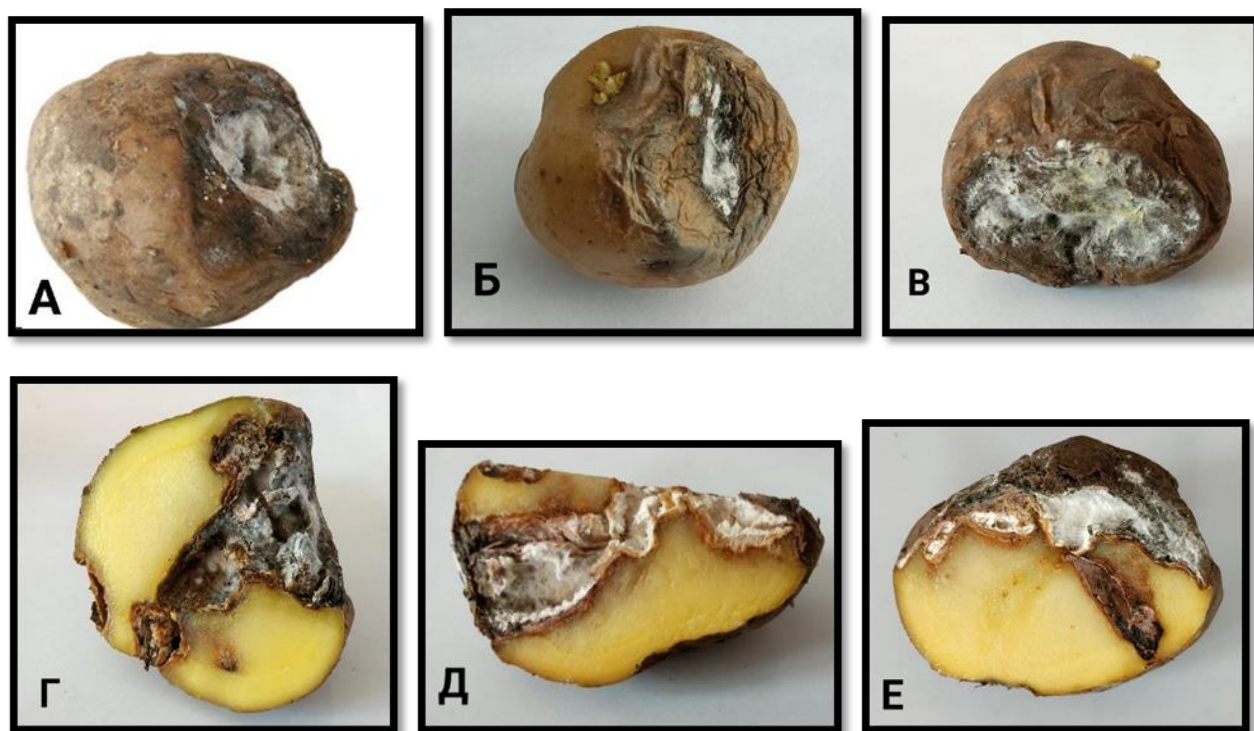


Рисунок 8. - Внешние (А, Б, В) и внутренние (Г, Д, Е) симптомы фузариозной сухой гнили (фото Зеитар Е.М.).

Виды *Alternaria*, являются основными грибными патогенами картофеля. Эти виды не только поражают картофельные растения, но и вызывают значительные уровни гнили клубней во время послеуборочного хранения.



Рисунок 9 - Симптомы альтернариозной гнили на клубнях картофеля (фото Зеитар Е.М.)

Симптомами появления черных пятен на листьях являются некроз от темно-коричневого до черного цвета (рисунок 10).



Рисунок 10 - Симптомы альтернариоза на листьях картофеля (фото Зеитар Е.М.).

В качестве антифунгальных фитосоединений для защиты картофеля от патогенов изучали эфирные масла чайного дерева *Melaleuca alternifolia*, и лаванды *Lavandula angustifolia* были предоставлены отделом экстракции эфирных масел Национального исследовательского центра (12622, Докки, Каир, Египет), масло семян моринги *Moringa oleifera* было получено от Египетского научного общества Моринги, Национального исследовательского центра (Докки, Каир, Египет), экстракт почек тополя черного *Populus nigra*, и хитозан пищевой с молекулярной массой 150 кДа, и степенью деацетилирования 85% производства ООО «Хитозановые технологии» (г.Энгельс).

Жидкий экстракт почек тополя черного *Populus nigra* был предоставлен Сухенко Людмилой Тимофеевной, д.б.н. профессор кафедры биотехнологии, биоэкологии, почвоведения и управления земельными ресурсами, главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии, Астраханский государственный университет им. В. Н. Татищева. Экстрагирование активных компонентов почек тополя проводили методом перколяции, подвергались трехкратной перколяции в 70% растворе этанола (рисунок 11), согласно методу Пономарева В. Д. (1976) и Сухенко Л. Т. (2009, 2023).



Рисунок 11 - Почки тополя черного (А), этаноловый экстракт (Б) (фото Зеитар Е.М.).

2.3 Методы исследований

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

2.3.1.1. Выделение чистой культуры возбудителей болезней и их идентификация

Естественным путем зараженные болезнью сухой гнилью клубни картофеля, были собраны в условиях Астраханской области. Зараженные клубни собирали в пластиковые полиэтиленовые пакеты и транспортировали в лабораторию для выделения патогенов. Сначала клубни промывали водопроводной водой для удаления излишков почвы, клубни погружали в 2% раствор гипохлорита натрия на 2 минуты, после чего промывали дистиллированной водой, затем клубни нарезали на небольшие кусочки размером примерно 1,0–1,5 см со здоровыми и пораженными тканями и подвергали поверхностной стерилизации в 0,5% растворе гипохлорита натрия (NaOCl) в течение 30 секунд и промыли сте-

рильной дистиллированной водой, а затем высушили стерилизованной фильтровальной бумагой.

Затем, кусочки картофеля помещали в чашки Петри, содержащие картофельно-декстрозный агар (КДА), состав на литр КДА составлял 200 г картофельного настоя, 20 г декстрозы, 15-20 г агара) и инкубировали при $25 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 5 дней (Batur-Ciesniewska et al., 2015). Для выделения чистой культуры полученные колонии фузариоза переносили на свежие планшеты КДА и поддерживали при 4°C для дальнейших исследований (Yikilmazsoy and Tosun, 2021). Вирулентность выделенных грибов поддерживалась путем двухмесячной инокуляции свежееизраженных и здоровых клубней и повторной изоляции на чашки Петри КДА. Для их сохранения до 12 месяцев моноконидажные культуры выдерживали при 4°C в 15–20% растворе глицерина (Paul et al., 2015).

Морфологическая идентификация изолятов грибов.

Признаки колоний цвета, формы, края, возвышения и радиального роста были визуальным образом исследованы с верхней и обратной сторон чистых культур. Для дальнейшей верификации вегетативную и репродуктивную структуры изолятов (макроконидии, микроконидии и хламидоспоры) изучали под составным микроскопом с 40-кратным увеличением (Gams and Booth, 1977; Gerlach and Nirenberg, 1982; Nelson et al., 1983; Leslie and Summerell, 2006; Borca and Carmen, 2013; Simmons, 1999).

Молекулярная идентификация изолятов грибов.

Выделение ДНК. Извлечение геномной ДНК проводили из 7-дневных свежих культур с использованием мини-набора геномной ДНК (Geneaid) в соответствии с протоколом производителя.

ПЦР-амплификация. Амплификацию гена RPB2 проводили с помощью RPB2–5F2 (Sung et al. 2007) и RPB2–7cR (Liu et al., 1999). ПЦР проводили в термоциклере MyCycler™ общим объемом 15 мкл. Смеси для ПЦР состояли из 1x буфера HotMaster Taq с Mg^{2+} , 0,2 мм смеси dNTP, 1 Ед ДНК-полимеразы HotMaster Taq, 0,3 μM каждого праймера и 50-100 нг ДНК-матрицы. Условия для ПЦР-амплификации состояли из начальной стадии денатурации продолжи-

тельностью 2 мин при 95°C, за которой следовали 35 циклов по 30 с при 94°C, 30 с, отжиг в течение 30 с, 72°C в течение 50 с и заключительная стадия удлинения продолжительностью 7 мин при 72°C. Частичный ген RPB2 был получен с использованием протокола ПЦР приземления, состоящего из 5 циклов по 45 с при 94 °C, 45 с при 60 °C и 2 мин при 72 °C, за которыми следовали 5 циклов при температуре отжига 58°C и 30 циклов при температуре отжига 54°C. Амплификации оценивали с помощью электрофореза продуктов ПЦР в 1,5% агарозном геле в течение 50 мин при 80 В в буфере Трис-борат-ЭДТА (ТВЕ).

Амплификация ДНК с использованием праймеров ITS. Были сконструированы праймеры для амплификации фрагмента гена ITS длиной 600 п.н. Мастер-микс для ПЦР (2,5 мкл буфера для ПЦР, 1,5 мМ MgCl₂, 200 мкМ dNTP, 1 ед. ДНК-полимеразы Taq (AmpliTaq, Perkin-Elmer), 8,5 мкл дистиллированной воды на реакцию) для всех реакций готовили в боксе биобезопасности. Пробирка для ПЦР содержит 7,5 мкл мастер-микса, 4 мкл ДНК (40 нг), 2,5 мкл 10 пмоль прямого праймера и 2,5 мкл 10 пмоль обратного праймера для достижения конечного объема 25 мкл. В качестве отрицательного контроля использовали пробирку для ПЦР без матрицы. ПЦР-амплификацию проводили в термоциклере ABI GeneAmp 9700 (Applied Biosystems, США), запрограммированном на один цикл при 94°C в течение 5 мин (начальная денатурация), затем 40 циклов денатурации в течение 1 мин при 94°C, отжиг в течение 1 мин при 55°C, удлинение в течение 1 мин при 72°C и окончательное удлинение в течение 10 мин при 72°C. Продукты ПЦР отображали на 1,5% агарозном геле и фотографировали с использованием системы документирования геля. Молекулярный размер продуктов ПЦР определяли по отношению к лестнице 1 т.п.о. (MBI, Fermentas, USA) в качестве маркера. На УФ-трансиллюминаторе указанные полосы вырезали из геля с наименьшим количеством гелевой фракции. ДНК элюировали и очищали с использованием набора для гель-экстракции QIAGEN (QIAGEN, GmbH, Германия), как описано в руководстве производителя.

Секвенирование ДНК. Продукты ПЦР секвенировали в обоих направлениях с использованием праймеров для ПЦР и набора для циклического секве-

нирования BigDye Terminator v. 3.1 (Applied Bio systems, Фостер Сити, Калифорния, США) в соответствии с рекомендациями производителя и анализировали с помощью секвенсора ABI Prism 3730XL (Applied Bio systems) в соответствии с инструкциями производителя.

Секвенирование ДНК гена ITS рДНК грибов. Для каждого грибного изолята после очистки фрагментов ITS вырезали целевую полосу и очищали с помощью набора для экстракции ДНК из геля (Fermentas, Германия), а очищенные продукты ПЦР секвенировали с помощью набора для секвенирования BigDye Terminator Cycle Sequencing (Perkin Elmer) на ABI Prism 310. Genetic Analyzer (Applied Biosystems) от Macrogen (macrogen.com, Корея) и депонировали сгенерированные последовательности в GenBank (база данных EMBL).

Филогенетический анализ: Анализ данных РНК полимеразы II (RPB2) - поиск выравнивания последовательностей был выполнен с использованием инструмента (blastn) базы данных GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/blastn). Нечеткие концы были исключены из всех анализов, а пробелы рассматривались как пятый символ в анализе скупости. Эволюционная история была проведена в MEGA7 (Kumar et al., 2016) с использованием метода максимального правдоподобия, основанного на модели Tamura and Nei (1993). Значение начальной загрузки было установлено равным 1000 повторений, чтобы оценить надежность филогении. Нужно объяснить значение термина деревьев

Процент филогенетических деревьев, в которых связанные таксоны сгруппированы вместе, показан рядом с ветвями. Исходные деревья для эвристического поиска были получены автоматически путем применения алгоритмов Neighbor-Join и BioNJ к матрице попарных расстояний, оцененных с использованием подхода максимального составного правдоподобия (МСП), а затем выбора топологии с более высоким значением логарифмического правдоподобия. Байесовский анализ был выполнен с помощью MrBayes v. 3.1.1 (Ronquist and Huelsenbeck 2003) с использованием алгоритма Монте-Карло с цепью Маркова (MCMC) (Larget and Simon 1999) для генерации филогенетического дерева с байесовскими значениями вероятности. Четыре цепочки запуска-

лись одновременно из случайной древовидной топологии и заканчивались через 200 000 поколений, и филогенетические деревья сохранялись каждое 100-е поколение, а 75% деревьев были отброшены на этапе выгорания.

Консенсусные последовательности грибного изолята, полученные из праймеров ITS1 и ITS4, были сначала отредактированы и подвергнуты поиску BLAST для определения предполагаемой идентичности с аналогичными последовательностями с использованием базы данных NCBI <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Затем каждый грибный изолят был преобразован в свою операционную таксономическую единицу (OTU) на основе показателей сходства последовательностей и выводов о филогенетических деревьях. Затем последовательности были сопоставлены с другими аналогичными последовательностями, загруженными из GenBank, с использованием программного обеспечения ClustalX (Thompson et al., 2002), BioEdit (Hall, 1999) и Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) ver. 6,0 (Tamura et al., 2011). Выравнивания редактировались вручную там, где это было необходимо. Все нуклеотидные последовательности патогенных грибов были отправлены в GenBank для получения инвентарных номеров.

Полученные последовательности были разделены на разные наборы данных для оценки филогенетических отношений на семейном и видовом уровне. Филогенетические деревья были построены с использованием метода объединения соседей (NJ), а молекулярный эволюционный анализ был проведен с использованием программного обеспечения MEGA, вер. 11,0 (Tamura et al., 2011).

2.3.1.2. Определение патогенности изолятов грибов *Fusarium* sp. и *Alternaria* sp., выделенных из клубней картофеля

Для определения агрессивности использовали 14-дневные культуры *Fusarium* spp. (9 изолятов), и 7-дневные культуры *Alternaria* spp. (12 изолятов), выращенные на картофельно-декстрозном агаре (КДА). Инокуляция клубней, неустойчивого к сухим гнилям сорта Ривьера, проводили по методике Logan

and Khan (1969) и Ammar et al., (2018). Клубни промывали водой, подвергали поверхностной стерилизации гипохлоритом натрия (2%) или спиртом в течение 3 мин. и несколько раз промывают стерилизованной водой. Клубни повреждаются механически пробочным сверлом на глубину 5 мм. Заражение проводили агаровыми блоками диаметром 5 мм с мицелием (*Fusarium* или *Alternaria*). Контролем служили клубни, в надрез которых помещали чистый блок агара.

Зараженные клубни хранили в пластиковых ящиках. Клубни закладывали в 15 повторностях (Методика исследований..., 1967) и хранили при температуре $21 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение месяца (Ammar et al., 2018).

По истечении сроков хранения клубни снимали с хранения, разрезали и измеряли глубину и ширину язвы, а также длину и ширину клубня. Оценку агрессивности изолятов проводили по индексу поражения Г.Т. Бебре (1988) по формуле:

$$X = \frac{dh}{DH} \cdot 100, \text{ где}$$

X - индекс поражения

d - диаметр поражения, мм; h - глубина поражения, мм; D - длина клубня, мм;
H - ширина клубня, мм.

В зависимости от величины индекса поражения все штаммы рода *Fusarium* и *Alternaria* разделили на 4 группы (таблица 3) по модифицированной шкале Малуа А.А. (2003).

Таблица 3 - Индексы агрессивности изолятов *Fusarium* и *Alternaria*

Группа	Степень агрессивности	Индекс поражения, %
1-я	малоагрессивные	1-25
2-я	среднеагрессивные	26-50
3-я	агрессивные	51-75
4-я	сильноагрессивные	76-100

2.3.1.3. Оценка устойчивости клубней картофеля различных сортов к *Fusarium* sp. и *Alternaria* sp.

Для изучения устойчивости клубней картофеля к возбудителю каждой из разновидностей *Fusarium* и *Alternaria* были выбраны изоляты, относящиеся к группе сильно патогенных (сильноагрессивные). Для проведения исследований использовали смесь штаммов грибов *Fusarium* и *Alternaria*. Определение устойчивости сортов проводили методом искусственного заражения (Logan and Khan, 1969) по индексу поражения по Г.Т. Бебре (1988) (таблица 4), и по Методы экспериментальной микологии (1982). В исследовании использовали следующие сорта Ривьера, Гала, Ред скарлет, Аризона.

Таблица 4 - Шкала оценки картофеля на устойчивость к *Fusarium* и *Alternaria*

Степень устойчивости сорта	Индекс поражения, %
Устойчивый	1-25
Среднеустойчивый	26-50
Восприимчивый	51-75
Очень восприимчивый	76-100

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

Фунгицидную активность протестированных эфирных масел и экстрактов определяли с помощью методов ингибирования роста мицелия и определения жизнеспособности спор. Метод контактного воздействия на рост мицелия оценивали *in vitro* с использованием метода разведения агаром (Yahyazadeh et al., 2008). Различные объемы эфирных масел или экстракта тополя черного смешивали в стерильной картофельно-декстрозной агаровой среде (КДА), содержащей 0,05% (об/об) Твин-80 (в случае эфирных масел) в виде эмульсии непосредственно перед разливом в чашки Петри (диаметр 90 мм) при температуре

50-55°C, основываясь на предварительных экспериментах по получению концентраций масла (0.0; 1.0; 2.0; 3.0; 4.0; 8.0; 10; 16.0 г/л), и (0,0; 10,0; 20,0; 30,0; 40,0 г/л) для экстракта тополя черного. Контрольные чашки получали такое же количество Tween-80, смешанного с КДА, но без масел (или экстракта). Пробку диаметром 5 мм, содержащую патоген, брали с края грибной культуры 5–7-дневной давности и помещали в центр каждой чашки. После инкубации при $25\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 7–10 дней (когда рост мицелия достиг края контрольных чашек) затем ингибирование роста мицелия (%) при каждой обработке определяли в соответствии с (Montealegre et al., 2003) путем измерения среднего значения двух перпендикулярных диаметров каждой колонии, и рассчитывается следующим образом:

$$\text{Ингибирование роста мицелия (\%)} = \left[\frac{c-t}{c} \right] \times 100$$

Где С и Т - радиальный рост (мм) гриба в контрольной и обработанной чашках Петри соответственно. Для каждой обработки было проведено по три повторения, и весь эксперимент был повторен трижды.

Чтобы оценить влияние обработок на жизнеспособность спор, суспензии спор получали из полностью колонизированных чашек путем нанесения стерильной дистиллированной воды на поверхность культуры, которую соскребали стерильной стеклянной L-образной палочкой. Полученную суспензию фильтруют через два слоя стерильной марли. Плотность спор в суспензии количественно определяли микроскопически. Для анализа прорастания спор: аликвоты по 500 мкл суспензии спор (содержащие 10^4 спор/мл) помещали в стерилизованные пробирки Эппендорфа объемом 2 мл, содержащие бульон картофельной декстрозы с указанными выше концентрациями и 0,05% Tween-80 в качестве эмульгатора. Эти пробирки инкубировали при $25\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 12 часов. Прорастание определяли как точку, в которой длина зародышевой трубки превышала диаметр споры (Soylu et al., 2010). Каждую обработку повторяли трижды. Процент всхожести спор регистрировали по формуле (Kiraly et al., 1974):

$$\text{Процент прорастания спор \%} = \left[\frac{\text{Количество проросших спор}}{\text{Общее количество исследованных спор}} \right] \times 100$$

Определение химического состава эфирных масел и экстракта. Анализ эфирного масла методом газовой хромато-масс-спектрометрии ГХ-МС проводили в Национальном исследовательском центре Докки, Каир, Египет, с использованием Thermo Scientific, Trace GC Ultra / ISQ Single Quadrupole MS, капиллярной колонки из плавленого кремнезема TG-5MS (30 м; 0,251 мм; 0,1 мм толщина пленки). Для детектирования ГХ-МС использовалась система электронной ионизации с энергией ионизации 70 эВ, в качестве газа-носителя использовался газообразный гелий с постоянной скоростью потока 1 мл/мин. Температура инжектора и линии передачи МС была установлена на уровне 280 °С. Температура духовки была запрограммирована с начальной температуры 40 °С (выдержка 3 мин) до 280 °С в качестве конечной температуры со скоростью увеличения 5 ° С/мин (выдержка 5 мин). Количественное определение всех идентифицированных компонентов было исследовано с использованием процентной относительной площади пика. Предварительная идентификация соединений была выполнена на основе сравнения их относительного времени удерживания и масс-спектров с данными NIST, библиотеки WILLY, системы GC-MS. С целью изучения свойств экстракта почек тополя черного были собраны почки из поселков, расположенных в непосредственной близости Приволжского района Астраханской области, примыкающих к рукавам реки Волги. Сбор проводили в первые дни марта, когда на побегах появились многочисленные почки. Классификацию видов проводили по методике Степанова и др., (2018).

Процесс извлечения биологически активных растительных компонентов из почек тополя черного осуществлялся путем перколяции. В частности, почки подвергли тройной перколяции в 70%-ном растворе этанола с использованием метода Пономарева (1976), Каухова (2006), Сухенко и др., (2009). Жидкий экс-

тракт из собранных и высушенных частей растения исследовали методом ГХ-МС TRACE DSQ II (Thermo Electron Corporation), чтобы определить низкомолекулярные органические соединения (Исаева и др., 2008; Курашов и др., 2012; Батаева и др., 2014). Перед ГХ-МС экстракты разбавлялись в 200 раз.

2.3.3. Синтез и характеристика эфирных масел, инкапсулированных нанохитозаном (нанопрепаратов)

2.3.3.1. Синтез эфирных масел инкапсулированных нанохитозаном

Эфирные масла, инкапсулированные нанохитозаном (ЭМ/ХиНЧ) получали ионным гелеобразованием по методу Keawchaoon and Yoksan (2011). Раствор хитозана (1% по массе, 40 мл) готовили путем растворения порошка хитозана в водном растворе уксусной кислоты (1%) при комнатной температуре в течение ночи. Затем к раствору добавляли Твин 80 (0,4 г) и перемешивали при 60°C в течение 2 ч до получения однородной смеси. Эфирное масло постепенно добавляли (по каплям) в перемешивающую смесь и проводили перемешивание в течение 20 мин для получения эмульсии "масло в воде". Различное содержание эфирных масел использовали для получения различных массовых соотношений хитозана к эфирному маслу (1:0,0; 1:0,25; 1:0,50; 1:0,75; 1:1,00 и 1:1,25) соответственно. Загруженные ЭМ/ХиНЧ самопроизвольно получали добавлением по каплям раствора триполифосфата натрия ТПФ (0,5% по массе, 40 мл) при перемешивании в течение 30 мин. Конечный pH раствора смеси составлял около 5,0. Частицы (нанокапсулы) ЭМ/ХиНЧ собирали центрифугированием при 8000 об/мин в течение 20 мин при 25 °C и промывали водным раствором Tween 80 (0.5% в/в) и дистиллированной водой несколько раз для удаления свободных эфирных масел. Полученные влажные частицы диспергировали в дистиллированной воде (25 мл). Наконец, образовавшуюся суспензию затем подвергали сублимационной сушке (лиофилизация) при температуре (-35°C) в течение 72 часов. Нанокапсулы хранились в холодильнике до дальнейшего ана-

лиза, либо свежеприготовленные наночастицы сушили при температуре 45°C в течение ночи и взвешивали. Схематическая иллюстрация, представляющая процедуру приготовления, показана на (рисунок 12) Shetta et al., (2019).

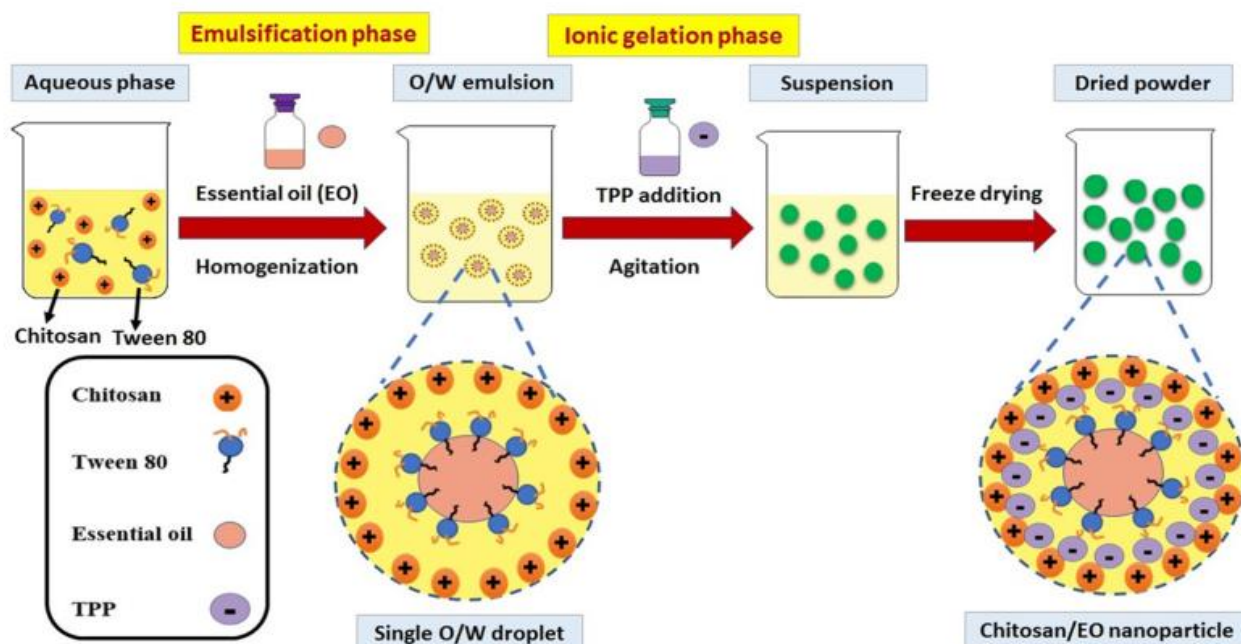


Рисунок 12 - Схематическая иллюстрация нанокапсулирования эфирных масел методом ионного гелеобразования. (Shetta et al., 2019)

2.3.3.2. Характеристика эфирных масел инкапсулированных нанохитозаном (нанопрепаратов)

2.3.3.2.1. Морфология и размеры нанопрепаратов

Атомно-силовой микроскоп (NT-MDT Spectrum Instruments, SOLVER NEXT, Лимерик, Ирландия) использовали для морфологической характеристики, а также размера частиц и распределения по размерам как наночастиц хитозана, так и наночастиц хитозана, насыщенных эфирными маслами. Каплю разбавленной суспензии наночастиц (0,05 мг/мл) наносили на кремниевую пластину, распределяли и сушили при комнатной температуре. Измерение изображения проводилось в режиме контактной топографии с использованием кантиле-

вера кремниевого зонда длиной 225 мкм, резонансной частотой 8–39 кГц, силовой постоянной 0,01–0,5 Н/м, высотой кончика 14–16 мкм, радиусом кончика 10 нм. кривизна. Частота сканирования использовалась как 1 Гц. Для обеспечения воспроизводимости результатов было проанализировано минимум 10 изображений из каждого образца.

Морфологию наночастиц также изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (TESCAN VEGA, Чехия). Высушенные наночастицы (1 мг) диспергировали в деионизированной воде (20 мл) и обрабатывали ультразвуком в течение 10 мин. Одну каплю дисперсии, содержащей наночастицы хитозана (нагруженные или ненагруженные эфирными маслами), наносили на кремниевую пластину и сушили при комнатной температуре. Затем высушенные наночастицы покрывали углеродом в высоком вакууме, а затем исследовали.

2.3.3.2.2. Определение эффективности инкапсуляции и поверхностного заряда (дзета-потенциала)

Определение эффективности инкапсуляции (ЭИ). Содержание загруженных эфирных масел в наночастицах хитозана определяли методом УФ-спектрофотометрии. Сначала были построены стандартные калибровочные кривые для масел. Для этого известные количества каждого эфирного масла растворяли в этаноле для приготовления серии растворов и сканировали в диапазоне 200–450 нанометров с помощью спектрофотометра (UNICO, 2800, США) UV-Vis. Заранее определенные количества нанокapsул диспергировали в 10 мл этанола и центрифугировали при 10000 об/мин в течение 20 минут при температуре 25 °С, как сообщает Deka et al. (2016) . Супернатант анализировали на содержание свободного масла с помощью УФ-спектрофотометрии. Наночастицы хитозана обрабатывали аналогичным образом и использовали в качестве холостой пробы. Каждый образец был воспроизведен трижды.

Эффективность инкапсуляции (ЭИ %) оценивали по формуле:

$$\text{ЭИ \%} = \left[\frac{\text{Общее количество загруженного эфирного масла}}{\text{Начальное количество эфирного масла}} \right] \times 100$$

Дзета-потенциал. дзета-потенциал свежеприготовленных наночастиц в суспензии измеряли с помощью (Malvern nano-series Zetasizer, Великобритания) с гелий-неоновым лазером, работающим при угле рассеяния 90° и длине волны 633 нм. при 25°C. Были проанализированы три повторных образца и указано среднее значение.

2.3.4. Сравнительная оценка антифунгальной активности инкапсулированных и свободных эфирных масел *in vitro*

Антифунгальную активность проводили с помощью метода заливки, как описано Askarne et al. (2012). В этом методе растворы серийных концентраций каждой обработки смешивали со стерилизованным КДА в чашке Петри (диаметром 9 см), содержащей 15 мл агара, для получения следующих конечных концентраций: 0,0–10,0 г/л (на основе предварительной работы). После посева мицелия возбудителей в центр агара чашки инкубировали при 25 °C в течение 7–10 дней, пока рост в контрольных (без обработок) достигает края чашек. Процент ингибирования роста мицелия обработки рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{Ингибирование роста мицелия (\%)} = \left[\frac{C-T}{C} \right] \times 100$$

Где С и Т - радиальный рост (мм) гриба в контрольной и обработанной чашках Петри соответственно. Для каждой обработки было проведено по три повторения, и весь эксперимент был повторен трижды.

2.3.5. Оценка биологической и экономической эффективности тестируемых препаратов при защите картофеля от сухой гнили

2.3.5.1. Оценка биологической эффективности тестируемых препаратов в лабораторных условиях методом искусственного заражения.

Исследования по определению защитного (профилактического) и лечебного (куративного) действия испытуемых препаратов против фузариоза и альтернариоза проводили на клубнях картофеля методом искусственного заражения сорта Ривьера. Клубни промывали водопроводной водой, подвергали поверхностной стерилизации спиртом, или гипохлоритом натрия (2%) в течение 3 мин. и несколько раз промывают стерилизованной водой. Клубни были прорезаны диаметром 5 мм и глубиной 5 мм пробочным сверлом. Обработку проводили: А) за 2 часа до заражения патогеном (защитное действие); Б) 24 часа после заражения патогеном (лечебное действие), путем опрыскивания клубней различными концентрациями наночастиц хитозана, свободных и инкапсулированных эфирных масел, экстракта почек черного тополя. Инокуляцию клубней проводили путем помещения в (надрезе) просверленное отверстие 5 мм агаровой пробки колонизированной *Fusarium* или *Alternaria*, удаленной из 7- или 5-дневной культуры, соответственно (Logan and Khan, 1969; Ammar et al., 2018). Контролем служат клубни, обрабатывали стерилизованной дистиллированной водой (и инокулировали патогеном). Для каждой обработки использовали десять клубней, каждая обработка имела три повтора, и эксперимент проводили трижды. После обработки и заражения патогенами клубни инкубировали в течение 21 дня при температуре $21 \pm 2^\circ\text{C}$ при относительно высокой влажности в пластиковых ящиках (Logan and Khan, 1969; Ammar et al., 2018). По истечении 3 недели, клубни разрезают и измеряют глубину и ширину язвы, а также длину и ширину клубня. Индекс поражения по Г.Т. Бебре, рассчитываемого по формуле:

$$X = \frac{dh}{Dh}, 100, \text{ где}$$

d - диаметр поражения, мм; h - глубина поражения, мм; D - длина клубня, мм;
H - ширина клубня, мм.

Биологическую эффективность препаратов рассчитывали по формуле Аббота (методические указания по регистрационным испытаниям....., 2009)

$$\mathcal{E} \% = (K - O / K) \times 100$$

где, Э- биологическая эффективность, %;

К- развитие болезни в контроле

О- развитие болезни в варианте опыта после обработки

2.3.5.2. Оценка биологической и экономической эффективности тестируемых препаратов при хранении картофеля методом естественного заражения

Оценку эффективности эфирных масел чайного дерева и лаванды (в свободное и нанопрепаратов виде), наночастиц хитозана, и экстракт почек тополя черного против сухой гнили заболеваний (фузариозная и альтернариозная гнили) проводили в периоды хранения на сортах Ривьера и Гала выращенных при естественном заражении на поле «КФХ Джафаров Нажмудин Вагидович» (Лиманский район, г. Астрахань, Нижневолжский регион РФ) 2020–2022 гг., отбор клубней для опыта проводили через 7 суток после уборки урожая картофеля.

Обработку клубней проводили, используя опрыскиватель UNITRAUM, перед закладкой клубней картофеля в хранилище с последующим естественным просушиванием, по соответствующим правилам, при следующей норме расхода средств (Таблица 5). Клубни, разделённые по вариантам, помещались по 10 кг в сетку в четырёхкратной или пятикратной повторности. Опыт закладывали по методикам (С.А. Гусев, 1988; Л.М. Нефедова, 1992; К.А. Пшеченков, 2007).

Таблица 5 - Схема обработки картофеля при закладке на хранение

вариант	Норма расхода средств	Расход рабочей жидкости
Контроль (уксусной кислоты 1,0% + Твин-80 0,05%)	-	10 л/т
Масло чайного дерева	40 г/т	10 л/т
Масло лаванды	100 г/т	10 л/т
Нанохитозан (наночастиц хитозана)	20 г/т	10 л/т
Инкапсулированное масло чайного дерева	10 г/т	10 л/т
Инкапсулированное масло лаванды	10 г/т	10 л/т
Экстракт почек тополя черного	400 г/т	10 л/т

Во время хранения проводили наблюдения за температурно-влажностным режимом. Температурный и влажностный режимы по периодам хранения представлены в таблице 6.

Клубневой анализ проводили через 8 месяцев хранения. Распространенность и развитие болезни на клубнях учитывали общепринятыми методами и вычисляли по стандартным формулам как в разделе 2.5.1. Экономическую эффективность экспериментальных препаратов устанавливали по уровню рентабельности по методике Н.Р. Гончарова (Гончаров, 2017).

Таблица 6 - Температурный и влажностный режимы по периодам хранения

№	Этапы хранения	температура °С	Относительная влажность воздуха, %
1	лечебный период	12-18	85-90
2	период охлаждения	среднее снижение температуры на 0,5 °С/сут	93–95
3	основной период	3-4	89-95

Статистическая обработка результатов. Полученные экспериментальные данные обработаны статистическими методами дисперсионного анализа при 95% уровне достоверности (достоверность различий между вариантами оценивали по показателю НСР (наименьшая существенная разница), с помощью программы Microsoft Office Excel 2016 и пакетом программ по статистике “CoStat”, версия 6,45.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

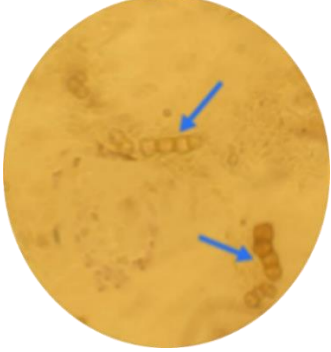
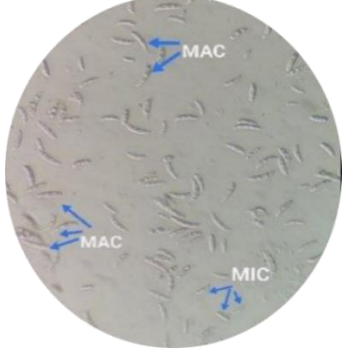
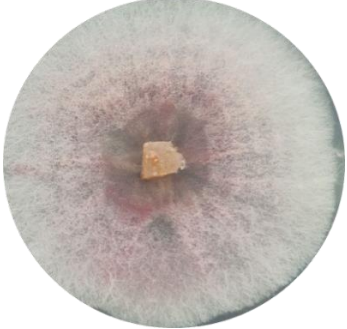
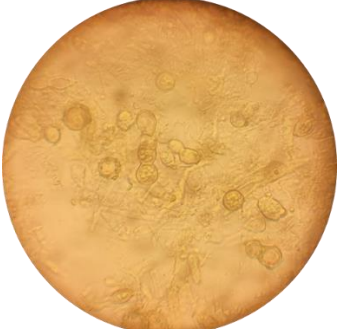
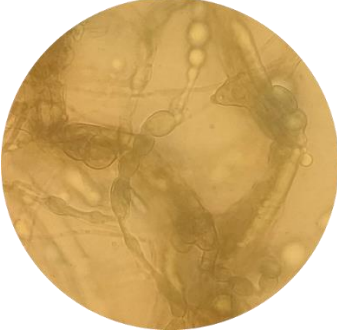
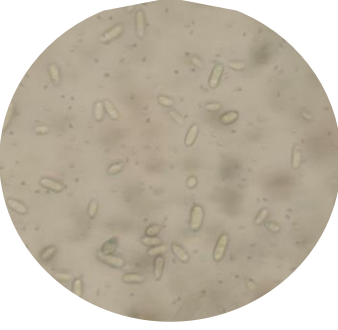
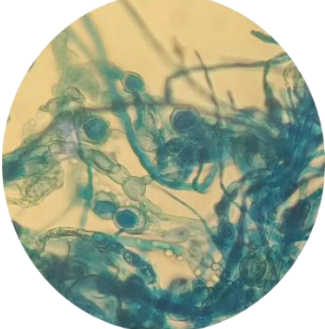
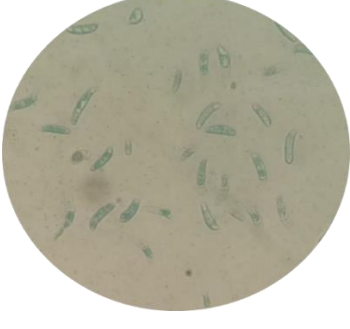
3.1. Выявление основных видов послеуборочных грибных возбудителей сухой гнили картофеля, оценка их патогенности и устойчивости к ним различных сортов

3.1.1. Выделение чистой культуры возбудителей болезней и их идентификация

Для морфологической идентификации возбудителя изоляты грибов, образующие колонии лососево-розового, бело-розового, белого цвета на картофельно-декстрозном агаре после 7–14 дней инкубации и продуцирующие изогнутые макроконидии, были приняты за *Fusarium* sp. Конидии были довольно однородными по типу и размеру. Макроконидии обильные, с 3–5 перегородками, с заостренной верхушечной клеткой. Микроконидии редкие, эллиптические, с перегородками 0–1. Изоляты продуцировали хламидоспоры поодиночке или парами (таблица 7), и эти результаты аналогичны результатам, полученным Peters et al (2008), и Aydin et al., (2016). По данным Borca and Carmen (2013), макроконидии должны быть серповидной формы, тонкие, сравнительно короткие и обычно довольно однородные по размеру. Апикальная клетка заострена, а базальная клетка имеет форму стопы. Количество перегородок три, или часто шесть перегородок. Микроконидии очень редки, но, если они присутствуют в воздушном мицелии, имеют овальную форму с перегородками от 0 до 1. Споры, продуцируемые культурой гриба на поверхности агаризованных сред, различаются по численности.

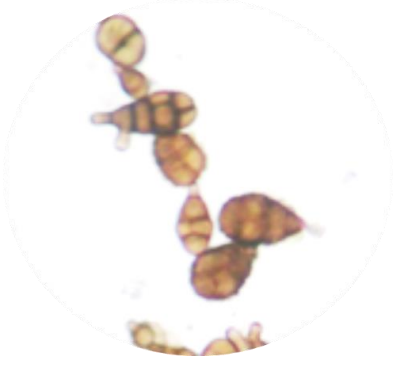
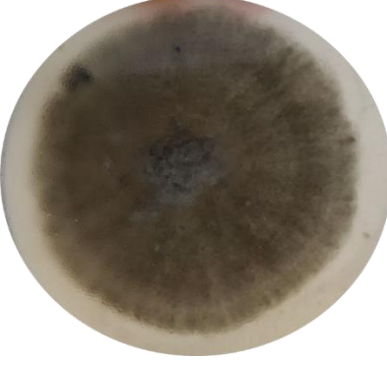
Для морфологической идентификации возбудителя рода *Alternaria*, были приняты изоляты грибов, образующих слабо разветвленный мицелий, имеющих колонию с темно-зеленой окраской. Конидии были от светло-оливковых до темных с множеством поперечных и продольных перегородок (таблица 8).

Таблица 7 - Морфологические признаки разных видов *Fusarium*, выделенных из клубней картофеля

№	Внешний вид колоний	Хламидоспоры	макроконидии (MAC), и микроконидии (MIC)
FA3			
FA26			
FR23			
FS12			

Примечание: (FA3, FA26) *Fusarium sambucinum*, (FR23, FS12) *Fusarium solani*.

Таблица 8 - Морфологические признаки разных видов *Alternaria* выделенных из клубней картофеля

№	Внешний вид колоний	конидии
AA1		
AT10		
AT12		
AA46		

Примечание: (AA1, AA46) *Alternaria alternata*, (AT10, AT12) *Alternaria tenuissima*.

Молекулярная идентификация наиболее агрессивных изолятов была проведена путем амплификации и секвенирования транскрибируемых спейсеров ITS (Kjer et al., 2010) для рода *Fusarium*, а ген *gpb2* был проведен с использованием праймера *gpd* (Berbee et al., 1999) для *Alternaria* sp. Ампликоны около, 400 п.о. были получены для *gpb2*. Набор данных *gpb2* состоял из 31 таксонов, включая таксоны вне группы. Показано оптимальное дерево с суммой длин ветвей = 249.3205. Рядом с ветвями показан процент повторяющихся деревьев, в которых связанные таксоны сгруппированы вместе в тесте bootstrap (1000 повторов) (рисунок 13). Дерево создано в масштабе, с длинами ветвей в тех же единицах, что и эволюционные расстояния, используемые для вывода филогенетического древа.

Эволюционные взаимоотношения таксонов (для *Fusarium* sp.). Эволюционная история была выведена с использованием метода UPGMA (Sneath and Sokal, 1973). Дерево консенсуса bootstrap, полученное на основе 500 повторов (Felsenstein, 1985), взято для представления эволюционной истории анализируемых таксонов (Felsenstein, 1985). Ветви, соответствующие разделам, воспроизведенным менее чем в 50% реплик bootstrap, сворачиваются. Процент повторяющихся деревьев, в которых связанные таксоны сгруппированы вместе в тесте начальной загрузки (500 повторений), показан рядом с ветвями (Felsenstein, 1985). Эволюционные расстояния были вычислены с использованием метода максимального совокупного правдоподобия (Tamura and Kumar, 2004) и выражены в единицах количества базовых замен на сайт. Этот анализ включал 10 нуклеотидных последовательностей. Все неоднозначные позиции были удалены для каждой пары последовательностей (опция попарного удаления). В конечном наборе данных было в общей сложности 536 позиций. Эволюционный анализ был проведен в MEGA11 (Tamura et al., 2021). Дерево с наибольшей вероятностью логарифмирования показано на (рисунок 14).

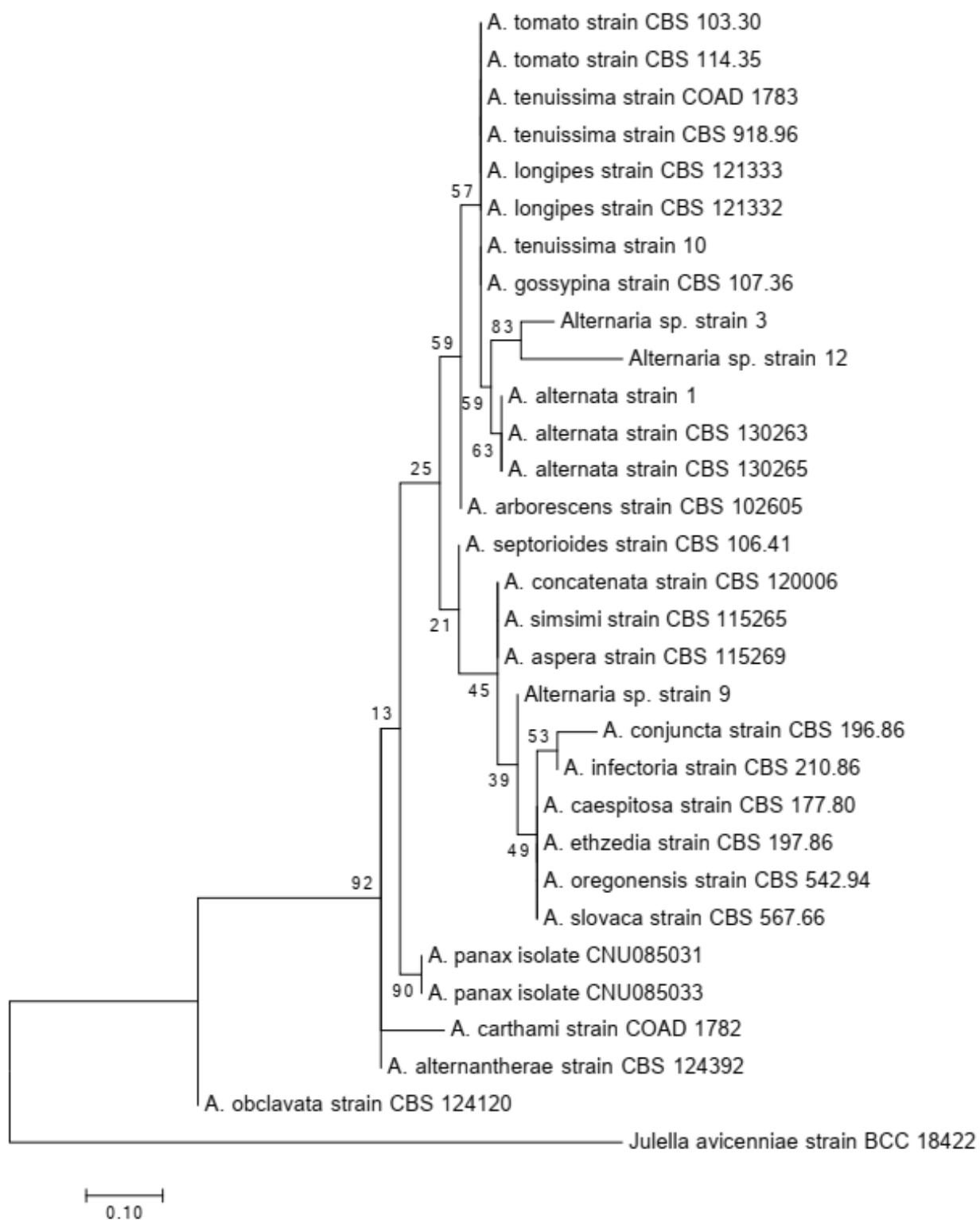


Рисунок 13 - Дерево анализа максимального правдоподобия, основанное на области гена *grb2* 31 видов *Alternaria* с использованием подхода максимального составного правдоподобия (MCL). Значения поддержки bootstrap указаны в узлах. Дерево было укоренено в *Julella avicenniae* (BCC 18422).

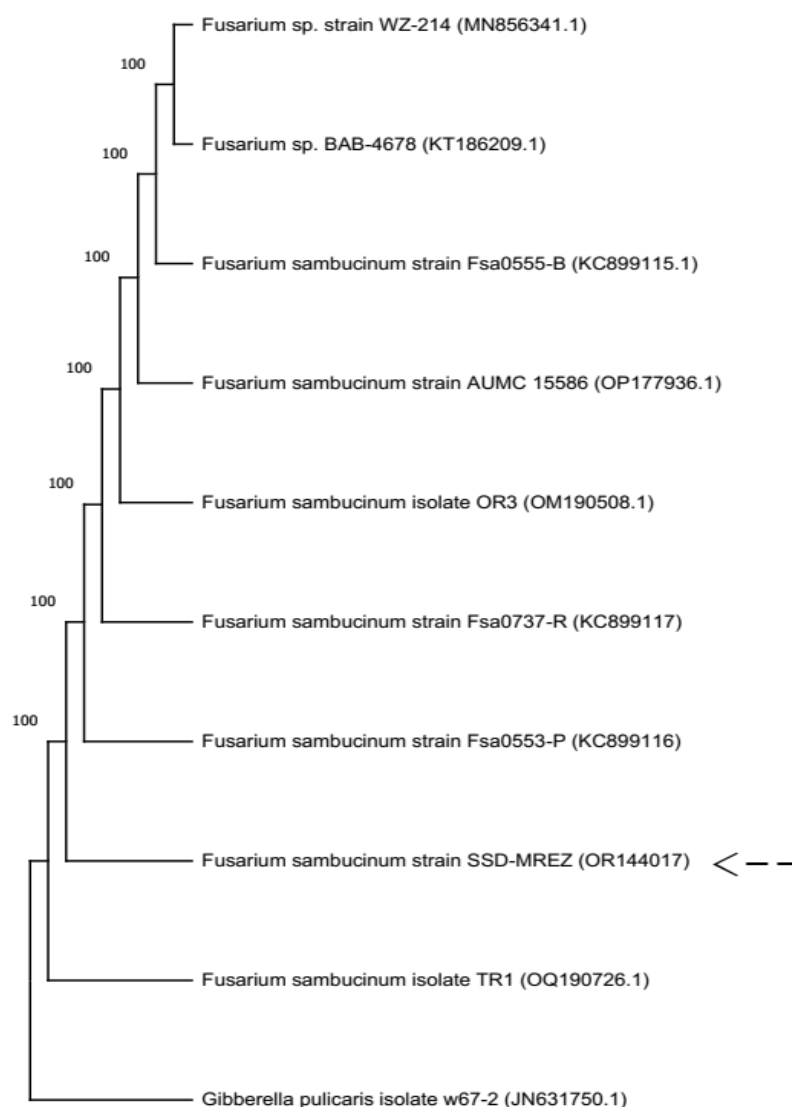


Рисунок 14 - Дерево анализа максимального правдоподобия, основанное на области гена ITS

В нашем исследовании была возможность обнаружить и изучить штаммы *Rhizoctonia solani*, собранные из больных клубней. На искусственных питательных средах *R. solani* идентифицируется по цвету мицелия, который может варьироваться от почти белого до темно-коричневого или почти черного (рис .15), с недифференцированными склероциями неправильной формы от светло-коричневого до темно-коричневого цвета. Изоляты *R. solani* известны как быстрорастущие микроорганизмы, которые в молодом возрасте производят гиали-

новый мицелий, который со временем становится желтым или коричневым с возрастом (Gnanamanickam, 2009).

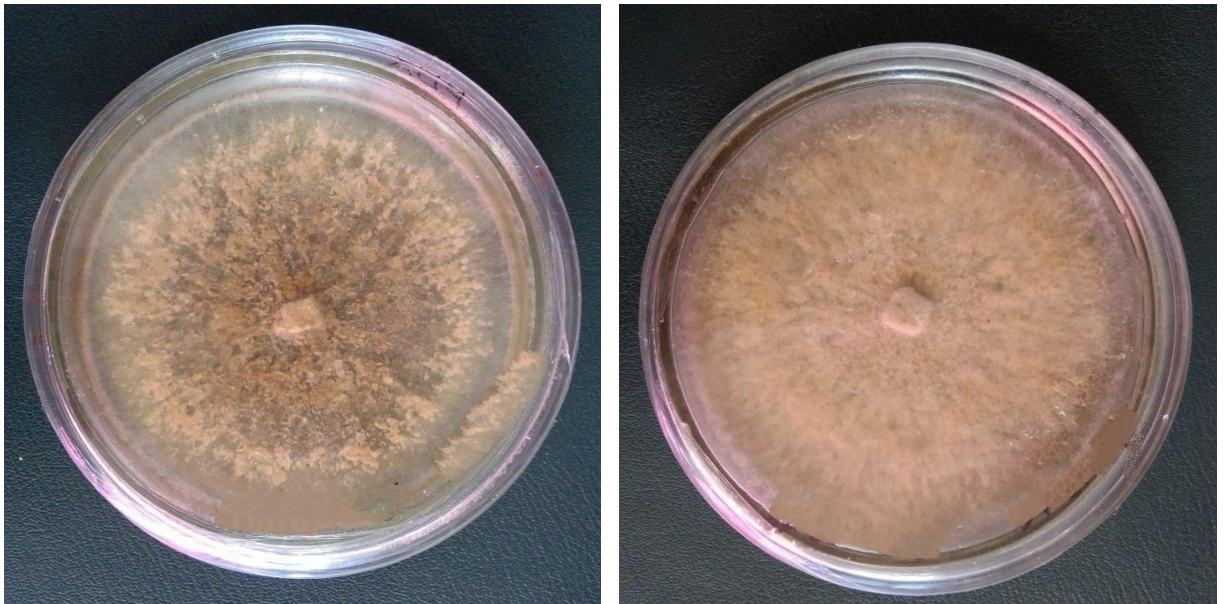


Рисунок 15 – Ризоктониоз картофеля *Rhizoctonia solani*, на искусственных питательных средах (КДА)

3.1.2. Определение патогенности выделенных грибных изолятов *Fusarium* sp. и *Alternaria* sp.

Опыты по искусственному заражению клубней картофеля возбудителями *Fusarium* и *Alternaria* с последующим хранением при температуре $21 \pm 2^\circ\text{C}$ показали, что среди изолятов *Fusarium* присутствуют малоагрессивные, среднеагрессивные, агрессивные и сильноагрессивные изоляты - 11,2; 11,1; 22,3; и 55,4%, соответственно. Тогда как у изолятов *Alternaria* преобладает группа среднеагрессивных (49,3 %), но отмечены также малоагрессивные (25,6%), и агрессивные (25,1%) (таблица 9).

Таблица 9 - Агрессивность различных изолятов рода *Fusarium* и *Alternaria*

Группа агрессивность	<i>Fusarium</i>		<i>Alternaria</i>	
	количество изолятов, %	Индекс поражения, %	количество изолятов, %	Индекс поражения, %
Малоагрессивные	11,2	25,3	25,6	19,1 24,3 12,7
Среднеагрессивные	11,1	37,2	49,3	46,5 39,3 37,1 29,7 36,7 49,2
Агрессивные	22,3	66,3 74,1	25,1	53,1 57,6 60,6
Сильноагрессивные	55,4	88,7 81,5 78,6 89,1 90,5	-	-

3. 1.3. Оценка устойчивости клубней картофеля различных сортов к *Fusarium* sp. И *Alternaria* sp.

Развитие сухой фузариозной гнили и альтернариоза внутри хранящихся клубней в условиях искусственной заражения показало, что сортов, устойчивых к возбудителям Астраханской патогенных популяции, нет. В отношении *Fusarium*, сорта Аризона и Ред Скарлет показали себя восприимчивыми, Гала и Ривьера - Очень восприимчивыми (таблица 10). В отношении альтернариоза, сорта Аризона показало себя среднеустойчивым, а Ривьера, Ред Скарлет, и Гала – восприимчивыми (таблица 10).

Таблица 10 - устойчивости клубней картофеля различных сортов к *Fusarium* и *Alternaria*

Группа устойчивости	<i>Fusarium</i>		<i>Alternaria</i>	
	Сорт	Индекс поражения для данного сорта, %	Сорт	Индекс поражения для данного сорта, %
Устойчивый (индекс 1–25)	-	-	-	-
Среднеустойчивый (индекс 26–50)			Аризона	38,6
Восприимчивый (индекс 51–75)	Аризона	72,2	Ривьера	57,5
	Ред Скарлет	69,1	Ред Скарлет	62,7
			Гала	54,1
Очень восприимчивый (индекс 76–100)	Гала	81,7		
	Ривьера	89,5		

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

Эфирные масла чайного дерева, лаванды, моринги, и экстракт тополя черного подвергали анализу на разлитом агаре для определения эффективности выбранного препарата против тестируемых патогенов. Было замечено, что масло чайного дерева (ЧД), и масло лаванды (ЛВ) были наиболее активными в отношении роста мицелия *Fusarium* sp и *Alternaria* sp, где в концентрации ЧД - 4 г/л, и концентрации ЛВ - 10 г/л полностью ингибировало рост мицелия *Alternaria* (рисунок 16) и *Fusarium* (рисунок 17). Напротив, эфирное масло моринги показало МИК при концентрации 16 г/л (рисунок 16 и 17). Масло чайного дерева полностью подавлял жизнеспособность спор *Alternaria* (рисунок 18) и *Fusarium* (рисунок 19) при концентрации 3 г/л и 4 г/л, соответственно. Масло лаванды полностью подавлял жизнеспособность спор *Alternaria* (рисунок 18) и *Fusarium* (рисунок 19) при концентрации 10 г/л и 8 г/л, соответственно. Масло

моринги полностью подавлял жизнеспособность спор *Alternaria* и *Fusarium* при концентрации 10 г/л и 16 г/л, соответственно (рисунок 18 и 19). 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.

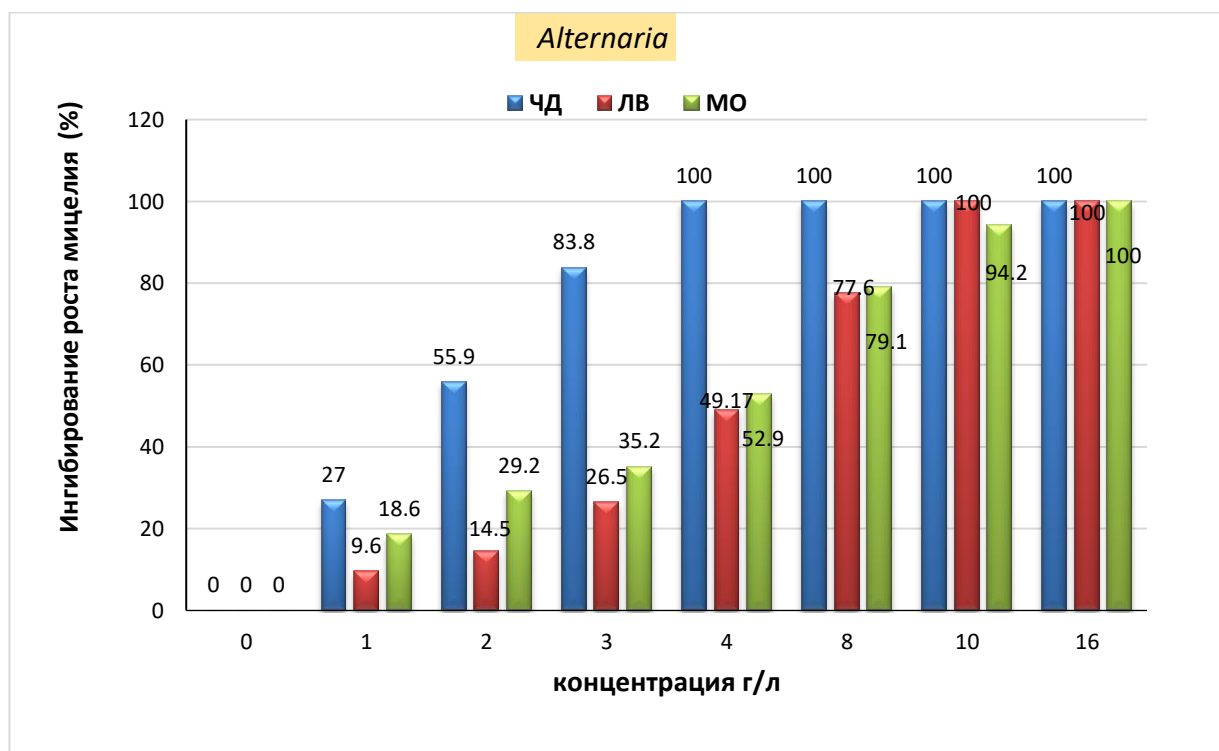


Рисунок 16 - Антифунгальная активность эфирных масел в отношении роста мицелия *Alternaria*. (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ) масло лаванды, (МО) масло моринги.

Согласно Silva et al., (2003), эфирное масло чайного дерева содержит высокую концентрацию терпинен-4-ола, одного из компонентов, ответственных за ряд антимикробных свойств в отношении патогенных микроорганизмов. 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.

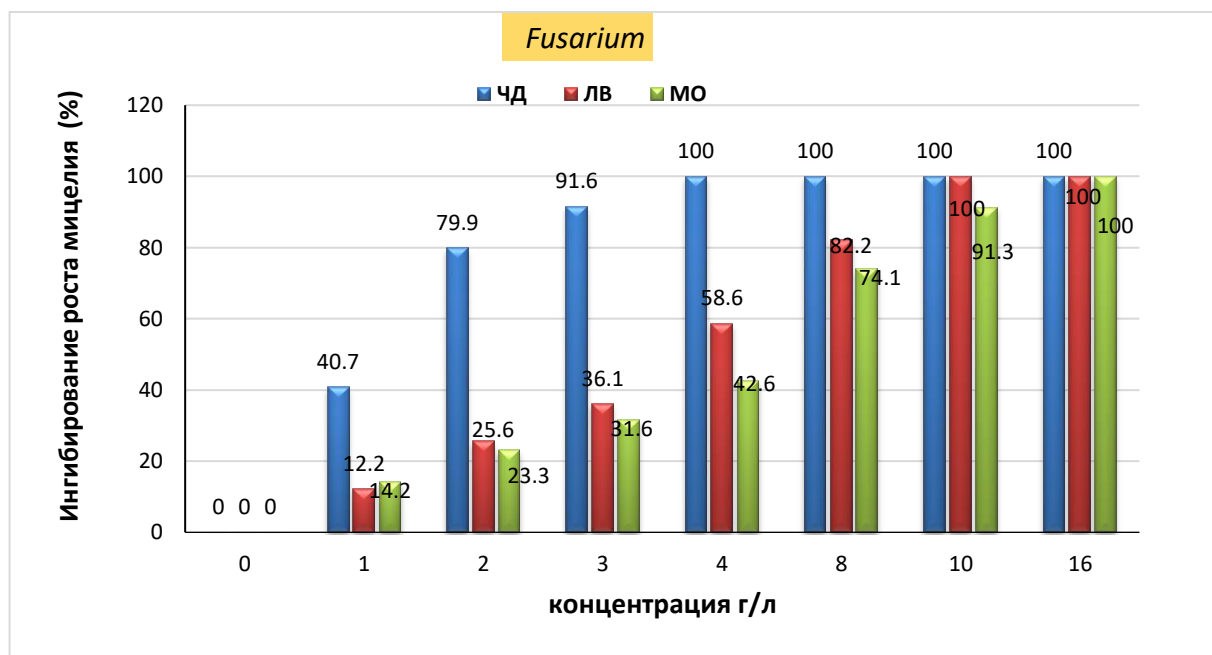


Рисунок 17 - Антифунгальная активность эфирных масел в отношении роста мицелия *Fusarium*. (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ) масло лаванды, (МО) масло моринги.

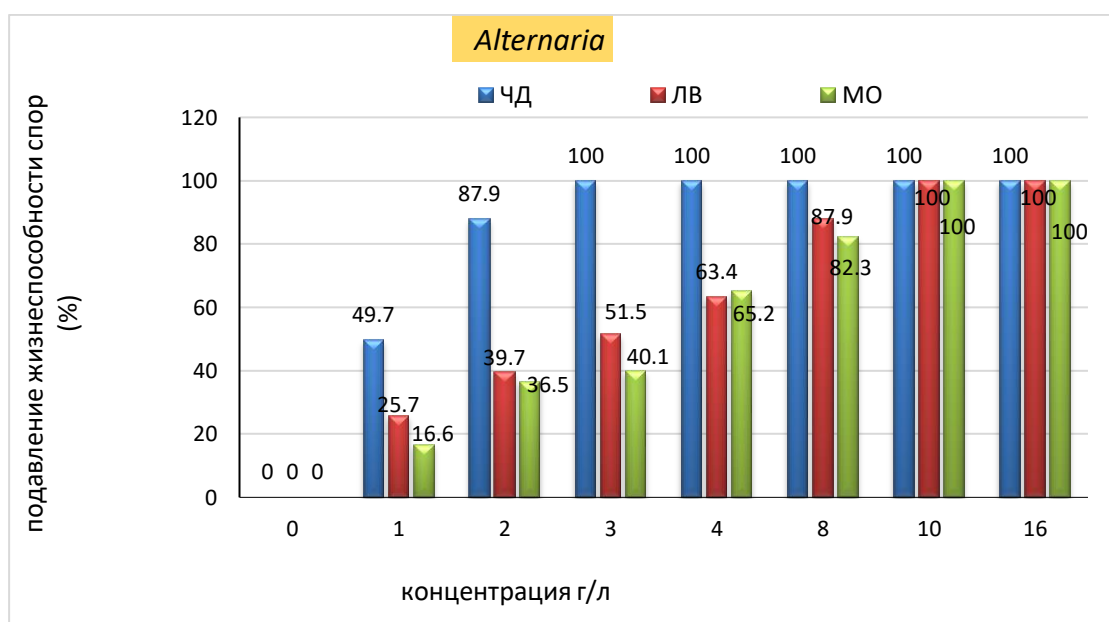


Рисунок 18 - Антифунгальная активность эфирных масел в отношении жизнеспособности спор *Alternaria*. (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ) масло лаванды, (МО) масло моринги.

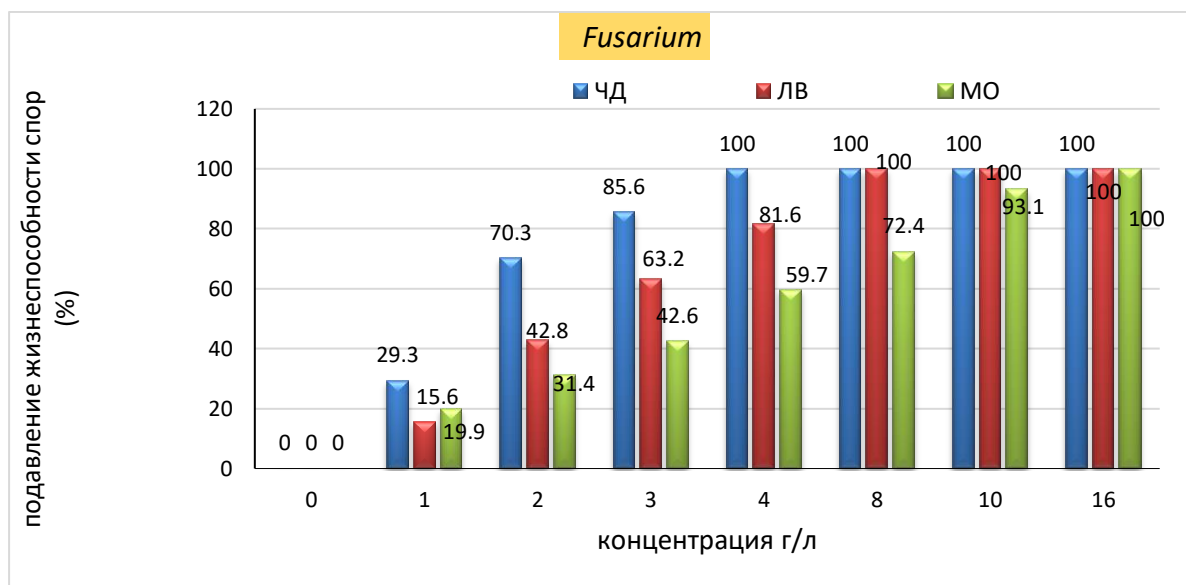


Рисунок 19 - Антифунгальная активность эфирных масел в отношении жизнеспособности спор *Fusarium*. (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ) масло лаванды, (МО) масло моринги.

Для экстракта почек тополя черного, полное ингибирование роста мицелия и жизнеспособность спор грибов альтернариоз и фузариоз обнаружено при концентрации 30 и 40 г/л в отношении *Alternaria* sp. и *Fusarium* sp., соответственно (рисунок 20). Подобные результаты были получены при использовании экстракта бразильского прополиса, показали, что этанольный экстракт бразильского прополиса обладает сильными противогрибными активностью в отношении *Colletotrichum musae*, ингибирование роста мицелии достигла $81 \pm 1\%$ при 1,6 г/л эквивалента галловой кислоты (Dudoit et al., 2020). Nassima et al., 2019 обнаружили, что экстракты почек *Populus nigra* и *Populus alba* обладают антимикробной активностью при диаметрах ингибирования в диапазоне от 6,6 до 21,3 мм, а экстракты *Populus nigra* проявляют антибактериальный эффект более чем на 70,0%. Сухенко и др., (2023) изучили антимикробные свойства экстракта почек черного тополя и показали полную бактерицидную активность почек *P. nigra* в отношении условно-патогенных микроорганизмов и микрофлоры воздуха и воды в МИК, равной 0,25 мкг/мл.

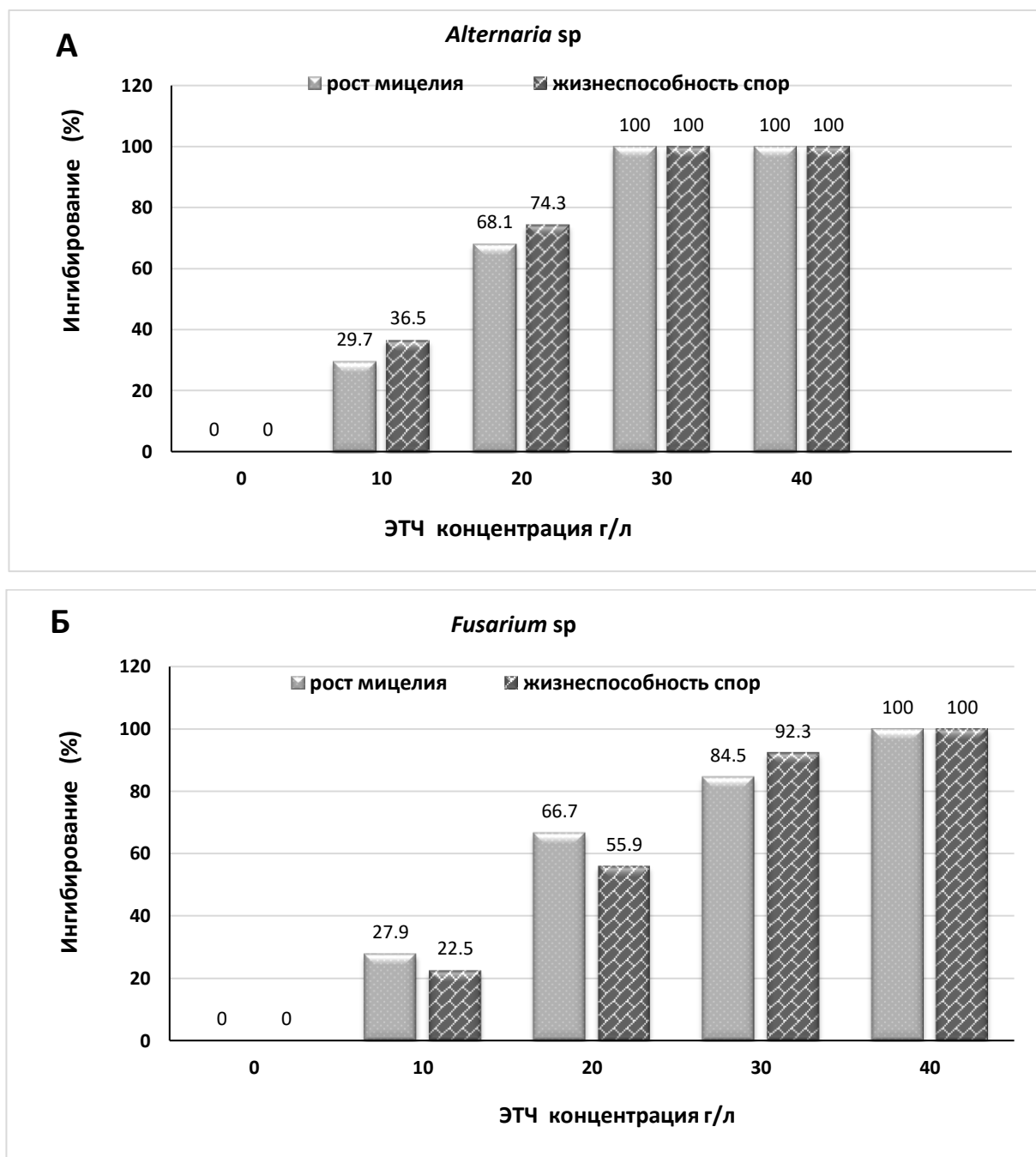


Рисунок 20 - Антифунгальная активность экстракта почек тополя черного (ЭТЧ) в отношении роста мицелия и жизнеспособности спор *Alternaria* (А), и *Fusarium* (Б) *in vitro*.

Минимальная ингибирующая концентрация (антифунгальная активность) хитозана: Хитозан значительно подавлял рост мицелия *Fusarium Sambucinum*, *Alternaria alternata* и *Rhizoctonia solani*, в зависимости от концентрации. Рост мицелия *F. sambucinum* и *R. solani* был полностью подавлен хитозаном при концентрации 1%, и 0,5% в случае *A. alternata* (таблица 11).

Таблица 11. Антифунгальная активность хитозана в отношении роста мицелия (мм) *F. sambucinum*, *A. Alternata* и *R. solani* in vitro.

Концентрация, (%)	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Fusarium sambucinum</i>		<i>Alternaria alternata</i>	
	рост мицелия (мм)	ингибирование роста (%)	рост мицелия (мм)	ингибирование роста (%)	рост мицелия (мм)	ингибирование роста (%)
0,0 (контроль)	85,0	0,0	84,3	0,0	85,0	0,0
0,125	63,6	25,1	61,1	27,5	55,3	34,9
0,25	26,3	69,0	18,6	77,9	32,1	62,2
0,5	7,1	91,6	5,3	93,7	0,0	100,0
1,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0

Определение химического состава эфирных масел и экстракта. Методом хромато-масс-спектрометрии обнаружено, что в состав масла чайного дерева входят 14 компонентов (таблица 12). Как следует из данных таблицы 3, основными компонентами масла являются Терпинен-4-ол (36,05%), γ -терпинен (17,01%), и α -терпинен (9,12%).

Таблица 12 - Химический состав эфирного масла чайного дерева

Наименование компонента	Индекс удерживания RI	Содержание, % от цельного масла
α -пинен	935	2,45
Сабинене	974	0,52
α -терпинен	1017	9,12
p -Цимен	1024	5,61
лимонен	1029	1,76
1,8-Цинеол	1031	1,98

γ-терпинен	1060	17,01
Терпинолен	1088	2,89
Терпинен-4-ол	1180	36,05
α-терпинеол	1190	7,08
Аромадендрен	1442	1,86
Виридифлорен	1499	3,21
δ-кадинен	1521	1,99
оксид кариофиллена	1594	0,91
Общее количество выявленных	91,04%	

В состав масла лаванды входят 12 компонентов (таблица 13). Как следует из данных таблицы 4, основными компонентами масла являются Линалилацетат (32,05%), β-Линалоол (24,02%), и Транс-β-оцимен (8,15%).

В состав экстракта почек тополя черного входят 49 соединений, из которых 10 остались неидентифицированными (Таблица 1, приложения 1). Основными компонентами экстракта являются галангин флаванон (34,07%), и тектохризин (11,76%), метилфенил-инденол (5,25%), сквален (3,8%), фенилэтанол (2,66%) и другие фенольные соединения и флаваноиды (Сухенко et al., 2023). В свою очередь, галангин флаванон (или пиноцембрин), наиболее содержащийся компонент в экстракте почек *P. nigra*, представляет собой основной флавоноид, использующийся в качестве многофункциональной молекулы в фармацевтической промышленности. Его обширный спектр фармакологической активности включает противомикробную активность (Браславский et al., 2011; Lan et al., 2015; Han et al., 2021)

Таблица 13 - Химический состав эфирного масла лаванды

Наименование компонента	Индекс удерживания RI	Содержание, % от цельного масла
β -мирцен	979	0,88
лимонен	1019	0,41
Транс- β -оцимен	1022	8,15
цис- β -оцимен	1030	3,58
β -Линалоол	1088	24,02
Терпинен-4-ол	1176	4,51
α -терпинеол	1189	6,01
Линалилацетат	1250	32,50
Лавандулилацетат	1281	5,13
Кариофиллен	1405	3,91
Цис- β -фарнезен	1450	7,47
α -бисаболол	1651	1,19
Общее количество выявленных	96,86%	

3.3. Синтез и характеристика инкапсулированных эфирных масел

3.3.1. Морфология и размеры нанопрепаратов

Визуализация с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) является эффективным методом для определения морфологии поверхности и более точного размера и распределения по размерам. АСМ-изображения демонстрируют сферическую форму и наноразмерную структуру наночастиц хитозана, а также наночастиц хитозана, содержащих эфирные масла (рисунок 21). Распределение по размерам, полученное методом АСМ, показало, что большинство наночастиц хитозана были в диапазоне от 40 до 100 нм (рисунок 21 А).

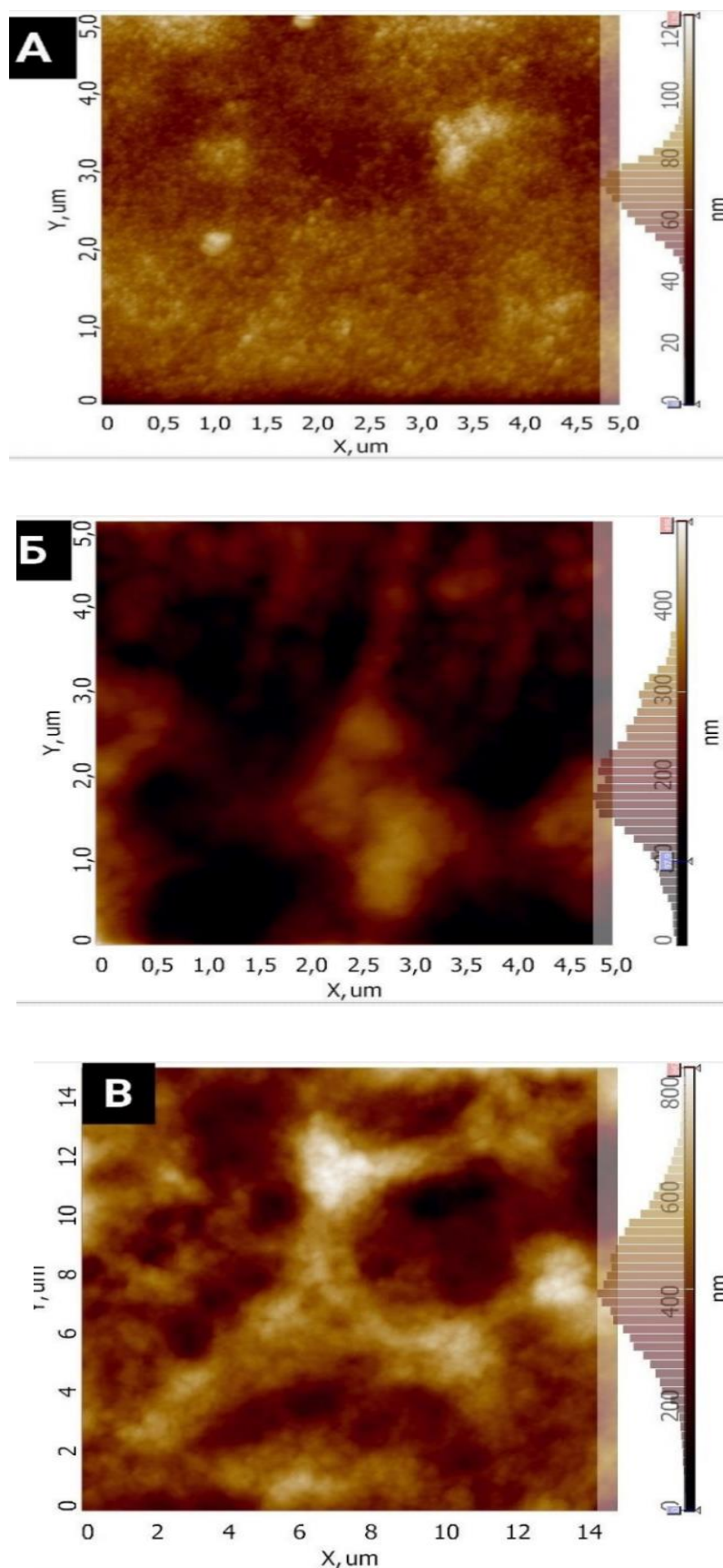


Рисунок 21 - АСМ изображения нанохитозана (А), инкапсулированное масло чайного дерева (Б), инкапсулированное масло лаванды (В).

Однако размеры наночастиц хитозана, насыщенных эфирным маслом чайного дерева, были распределены в диапазоне от 80 до 320 нм (рисунок 21 Б), а наночастицы хитозана, насыщенные эфирным маслом лаванды в диапазоне от 150 до 680 нм (рисунок 21 В). Увеличение размера наночастиц происходит за счет добавления (загрузки) масел в наночастицы хитозана, что свидетельствует об успешности наноинкапсулирования эфирных масел. Keawchaoon and Yoksan (2011) сообщалось о диапазоне размеров нанокапсул (532,6–716,6 нм), когда карвакрол был инкапсулирован в наночастицы хитозана. Hosseini et al., (2013) сообщили, что размер нанокапсул (309,8–402,2 нм), когда эфирное масло орегано было инкапсулировано в наночастицы хитозана. Наночастицы хитозана со средним размером около 100 нм были получены путем ионного гелеобразования хитозана в присутствии триполифосфата натрия (Попова et al., 2020). Размеры нанокапсул (нанопрепаратов) также было проанализировано с помощью программной платформы Advanced Watershed (рисунок 22.1 и 22.2), где наблюдались расчет количества нанокапсул в образце и распределение нанокапсул по размеру.

Некоторые авторы, например Cai et al., (2022), инкапсулировали эфирное масло *Ocimum basilicum* L. в наночастицы хитозана путем эмульсионного и ионного гелеобразования. По мнению авторов, благодаря универсальности, использование хитозана служило в качестве носителя и улучшало биологические свойства препарата (биосовместимость, безопасность и разлагаемость). Другие авторы, получали наночастицы чистого хитозана с размерами 198,7 нм, однако, для получения наночастиц хитозана с эфирным маслом орегано с большим размером (309–402 нм) (Hosseini et al., 2013).

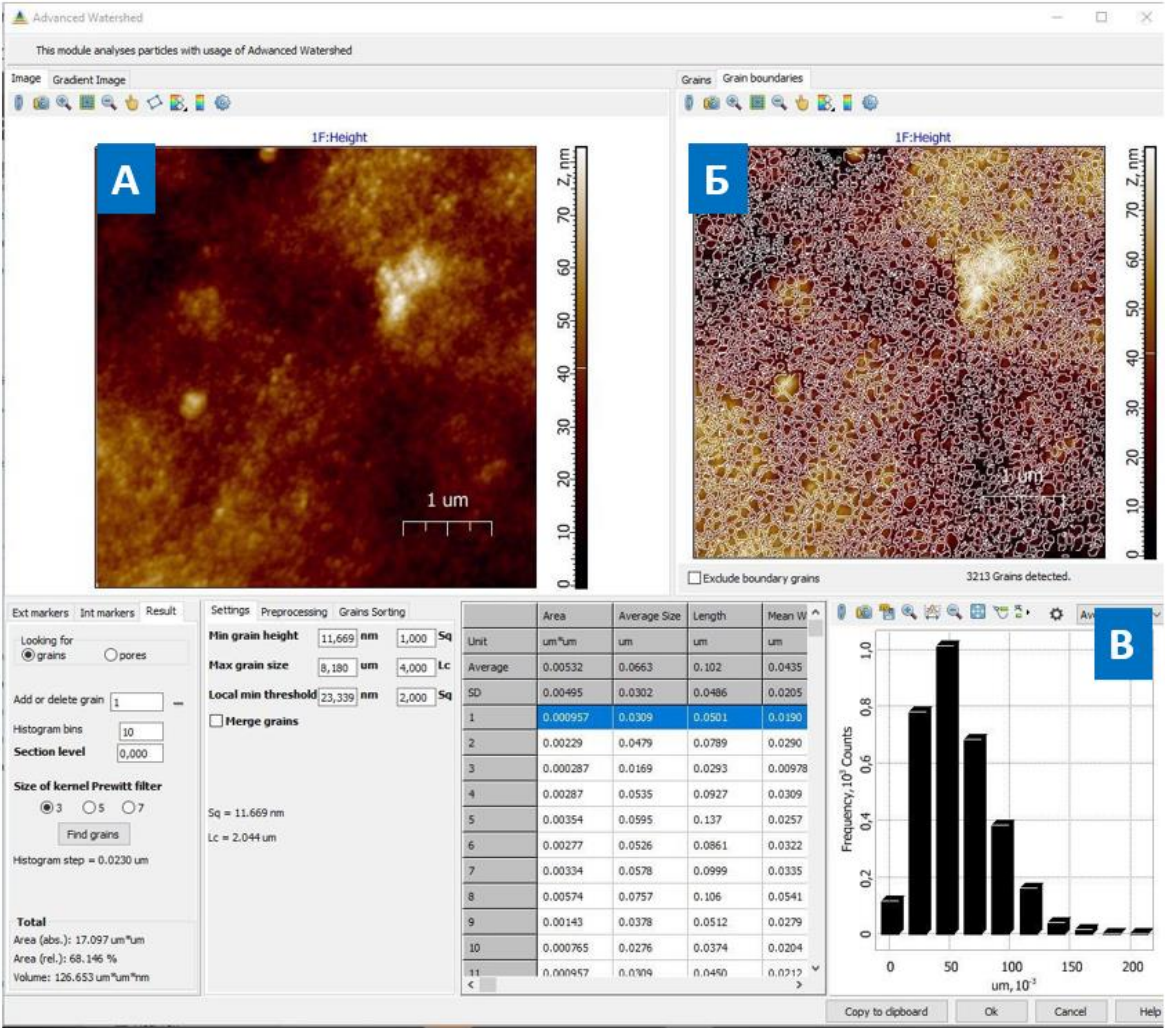


Рисунок 22.1 - Определение размеров нанокapsул с помощью программной платформы Advanced Watershed, (А) изображения атомно-силовая микроскопия нанокapsул, (Б) расчет количества нанокapsул в образце, (В) распределение нанокapsул по размеру.

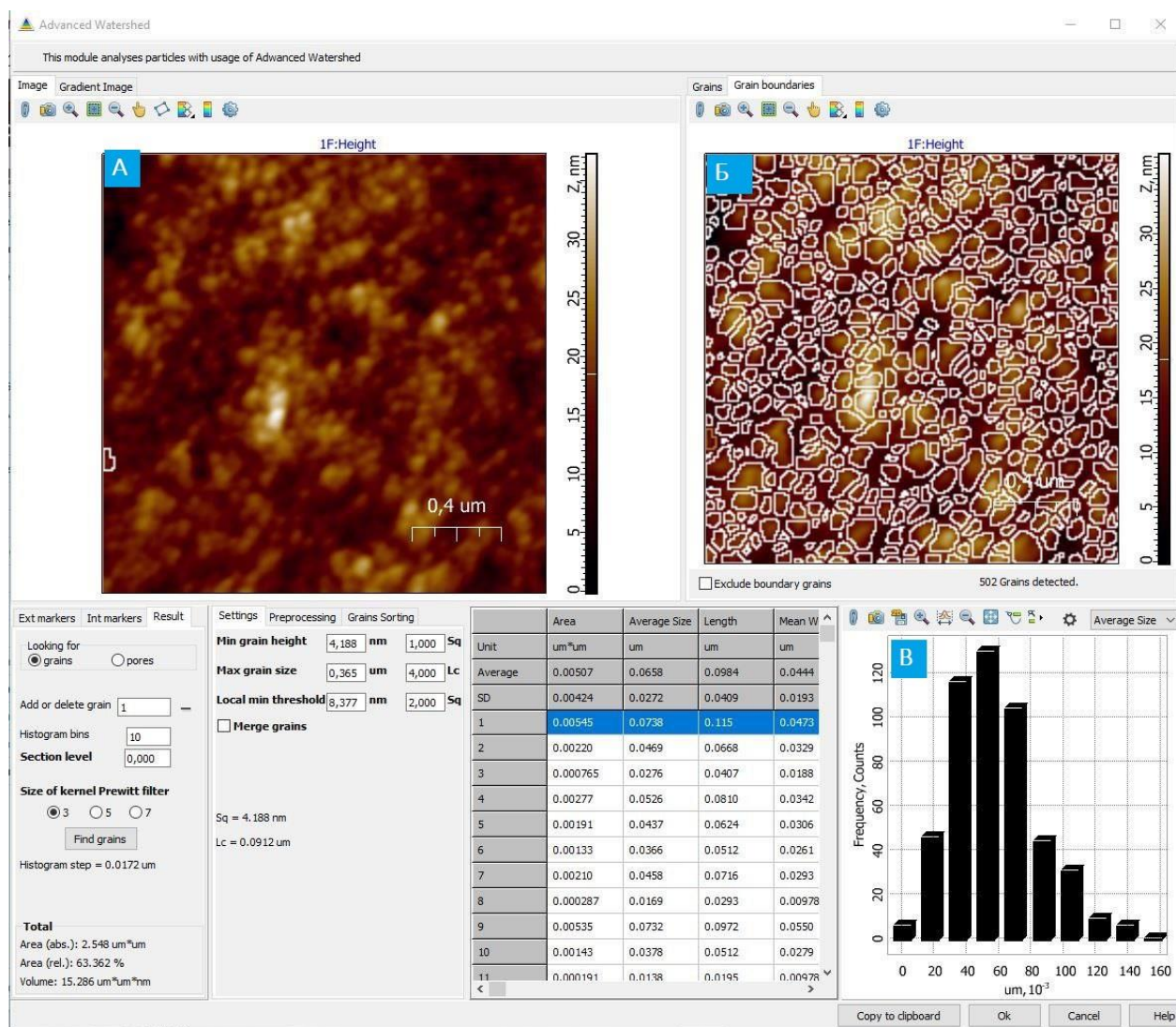


Рисунок 22.2 - Определение размеров нанокapsул с помощью программной платформы Advanced Watershed, (А) изображения атомно-силовая микроскопия нанокapsулы, (Б) расчет количества нанокapsул в образце, (В) распределение нанокapsул по размеру.

Размеры и формы нанопрепаратов эфирных масел инкапсулированных нанохитозаном были также исследованы методом сканирующей электронной микроскопии. Как видно на рисунке 23 А, наночастицы хитозана представляли со средним размером 79,41–186,4 нм, для нанопрепарата масло чайного дерева, средний размер составлял 100–540 нм (рисунок 23. Б), нанопрепарата масло лаванды имели размер 130–490 нм (рисунок 23. В). Матвеева и др., (2022) приготовили образцов наночастиц хитозана с размерами 186,1–739,2 нм методом ионного гелеобразования.

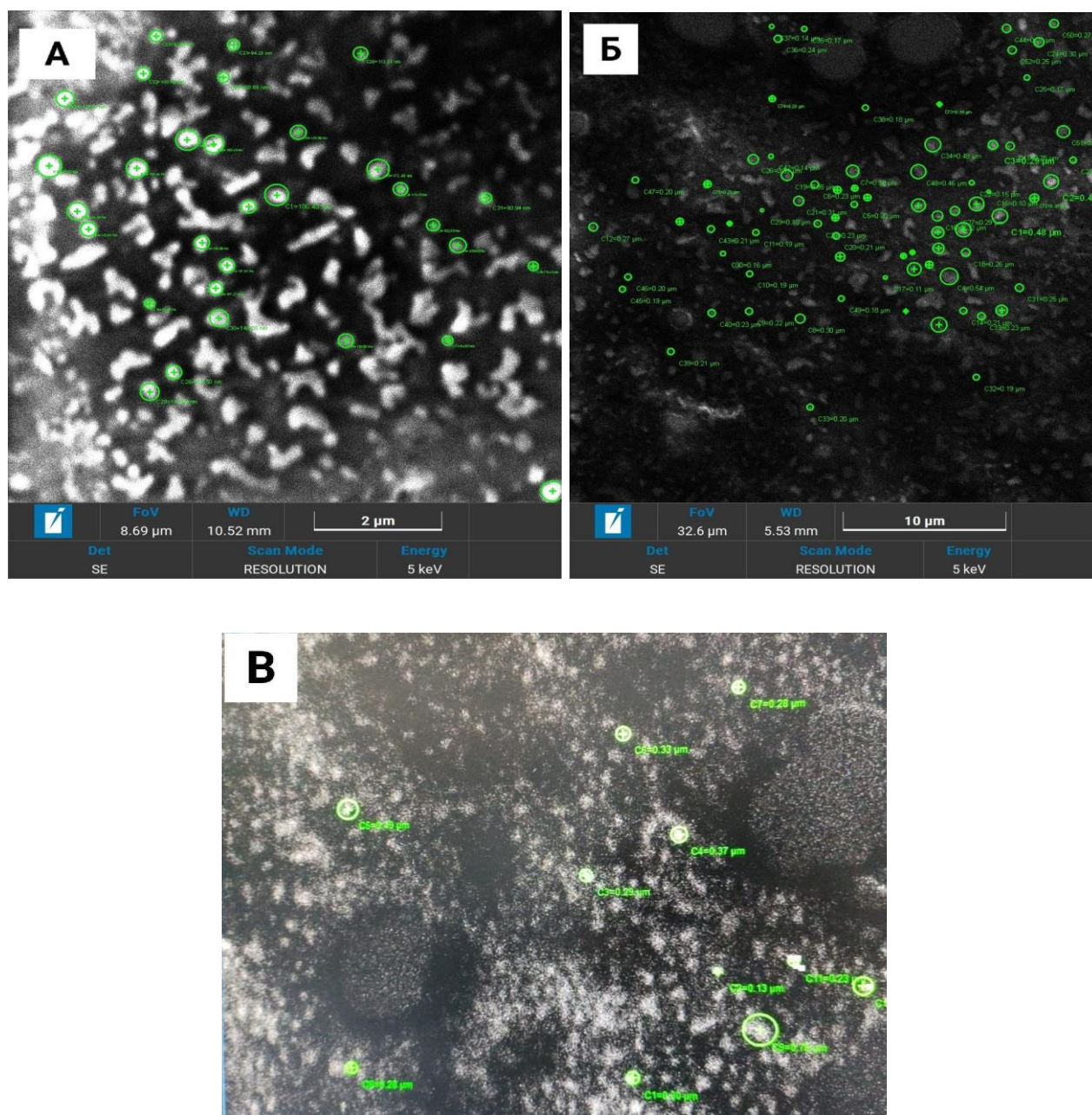


Рисунок 23 - СЭМ-изображение наночастиц хитозана (А), нанопрепарата масла чайного дерева (Б), и нанопрепарата масла лаванды (В).

3.3.2. Эффективность инкапсулирования и поверхностный заряд (дзета-потенциала) синтезированных нанопрепаратов

Эффективность инкапсуляции (ЭИ) масла чайного дерева и лаванды была определена методом УФ-спектрофотометрии, их значения варьировались от 38,25 до 89,60% у масла чайного дерева (таблица 14), и 42,46–86,99% масла

лаванды (таблица 15), соответственно. В обоих инкапсулированных эфирных маслах результаты показали, что ЭИ увеличивалась в зависимости от исходного содержания эфирных масел, достигая их максимума при соотношении (1:0,50 по массе) для обоих эфирных масел, и по этой причине, соотношение (1:0,50 по массе) для обоих эфирных масел было выбрано в качестве оптимальной формулы для последующих исследований. Причина сходства показателей эффективности инкапсуляции между двумя эфирными маслами может быть связана со сходством состава между маслом чайного дерева (ЧД) и маслом лаванды (ЛВ), которые были дополнительно проанализированы с помощью газовой хроматографической масс-спектрометрии и показали, что основными компонентами обоих масел являются монотерпеноиды. Было обнаружено, что эти результаты согласуются с выводами Keawchaoon и Yoksan (2011), сообщивших об инкапсуляции карвакрола в наночастицах хитозана. После успешного приготовления наночастиц хитозана, и эфирных масел, инкапсулированных в наночастицы хитозана, была проведена оценка дзета-потенциала полученных наночастиц, чтобы показать влияние инкапсулирования эфирных масел на поверхностный заряд и стабильность приготовленных нанопрепаратов. Наночастицы хитозана показали значение дзета-потенциала $+51,9 \pm 0,6$ мВ (таблица 14), что указывает на положительно заряженную поверхность частиц, что является результатом спонтанного образования наноконплекса между хитозаном и триполифосфатом натрия (ТПФ) с общим положительным поверхностным зарядом. Эти результаты согласуются с предыдущим исследованием по Nallamuthu et al. (2015). Дзета-потенциал снизился до значений 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. Это свидетельствовало о том, что добавление эфирных масел уменьшало поверхностный положительный заряд и снижало дисперсионную стабильность наночастиц в воде. Снижение значения дзета-потенциала может быть в некоторой степени результатом дополнительного покрытия эфирным маслом поверхности наночастиц хитозана. Jang and Lee (2008), и Wu et al. (2005) также сообщили, что частицы хитозан-ТПФ становились крупнее, а

положительно заряженная поверхность уменьшалась при увеличении исходного содержания лекарственных средств, таких как аскорбиновая кислота и глицирризинат аммония.

Таблица 14 - 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 $\pm$ 0,00	+51,9 $\pm$ 0,6
1:0,25	38,25 $\pm$ 3,23	+40,3 $\pm$ 0,2
1:0,50	89,60$\pm$2,71	+39,3$\pm$0,6
1:0,75	52,43 $\pm$ 1,89	+34,5 $\pm$ 0,1
1:1,00	43,75 $\pm$ 3,64	+31,2 $\pm$ 0,9
1:1,25	40,51 $\pm$ 2,97	+29,7 $\pm$ 0,7

Таблица 15 - 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$\pm$3,56	+38,1$\pm$0,7
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

Song et al., (2021) инкапсулировали эфирное масло мандарина (*Citrus reticulata*) с наночастицами хитозана для улучшения антибактериальных свойств и продления срока хранения свинины. Было обнаружено, что эффективность инкапсуляции масляных капсул составляет 67,32–82,35%, средний размер частиц со-

ставляет 131,3 нм–161,9 нм, а дзета-потенциал составляет 30 мВ. Средний размер частиц коррелирует с типом эфирного масла, концентрацией (ТПФ) и материалом стенок (Modarres-Gheisari et al., 2019). Дзета-потенциалы оценивают дисперсию агрегации между частицами. Как и во всех случаях, дзета-потенциал превышал 30 мВ, что свидетельствовало о том, что достаточное электростатическое отталкивание капель стабилизировало их в масляных нанокapsулах (Gul et al., 2018). Самое высокое значение дзета-потенциала как нанопрепарата масла чайного дерева, так и нанопрепарата масла лаванды, которые показали самую высокую стабильность, наблюдалось при соотношении (хитозан : эфирное масло) (1:0,50 вес/вес) и, соответственно, были выбраны для остальных испытаний.

Термическая стабильность. Термографический анализ (ТГА) является полезным методом для изучения изменения массы образца в зависимости от температуры и оценки термостабильности образца. Из диаграммы ТГА нанохитозана (рисунок 24.1) видно, что при 254,7 °C наблюдается потеря массы образца до 26,31%, и остаточная масса при 482,3 °C достигла 57,09%. ТГА чайного дерева масло (рисунок 24.2) видно, что при 177,8 °C наблюдается потеря массы образца до 18,63%, и остаточная масса при 482,3 °C достигла 45,32%, но после инкапсуляции с наночастицами хитозана (рисунок 24.3) видно, что при 332,8 °C потерей массы до 11,2% и остаточная масса при 481,5 °C увеличивалась до 60,8%. Можно сделать предположение, что инкапсуляция приводит к более высокой термоустойчивостью эфирного масла.

ТГА лавандового масла (рисунок 24.4) видно, что при 236,2°C наблюдается потеря массы образца до 63,4%, и остаточная масса при 482,9 °C достигла 29,5%, но после инкапсуляции с наночастицами хитозана (рисунок 24.5) видно, что при 256,3°C потерей массы до 15,7% и остаточная масса при 484,1°C увеличивалась до 70,6%. Можно сделать предположение, что инкапсуляция приводит к более высоким значениям термоустойчивости эфирного масла.

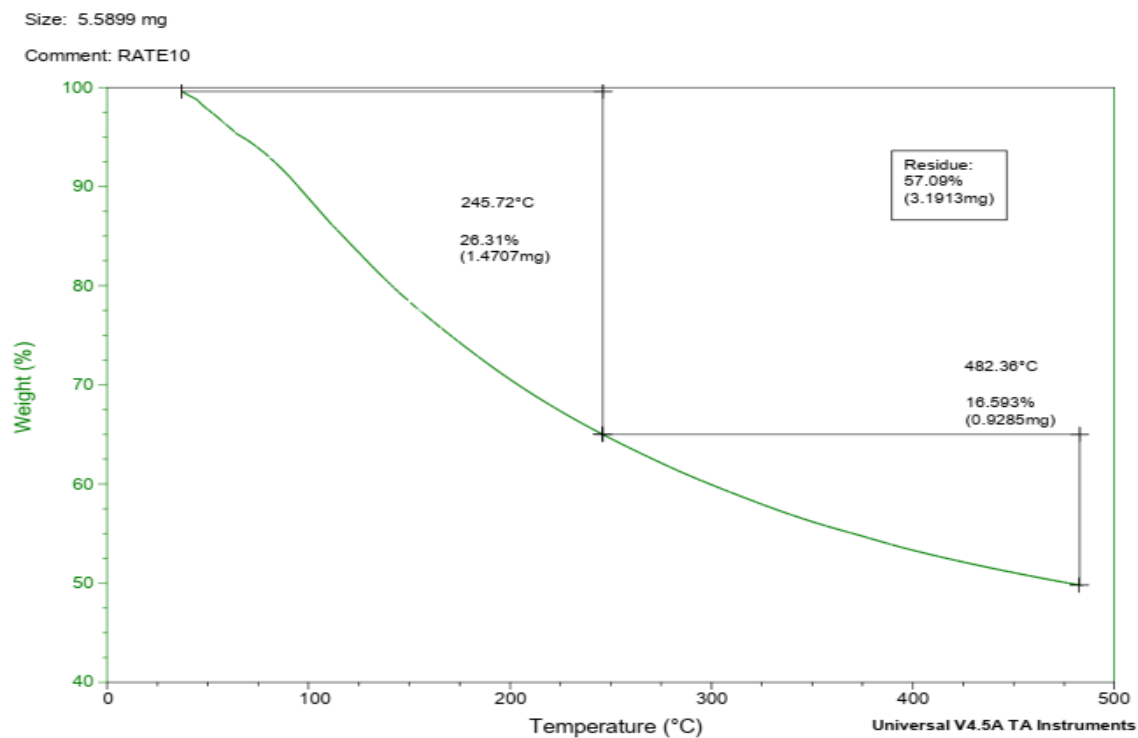


Рисунок 24.1 - Термогравиметрический анализ наночастиц хитозана

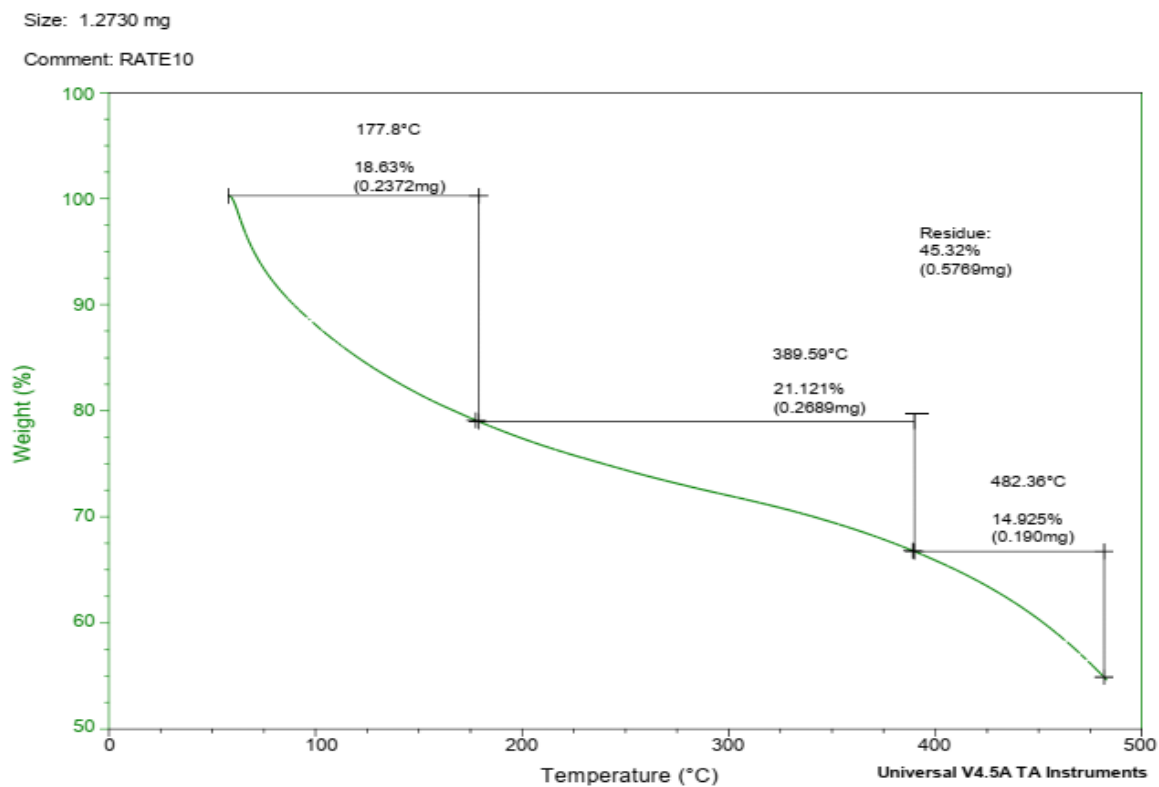


Рисунок 24.2 - Термогравиметрический анализ масла чайного дерева

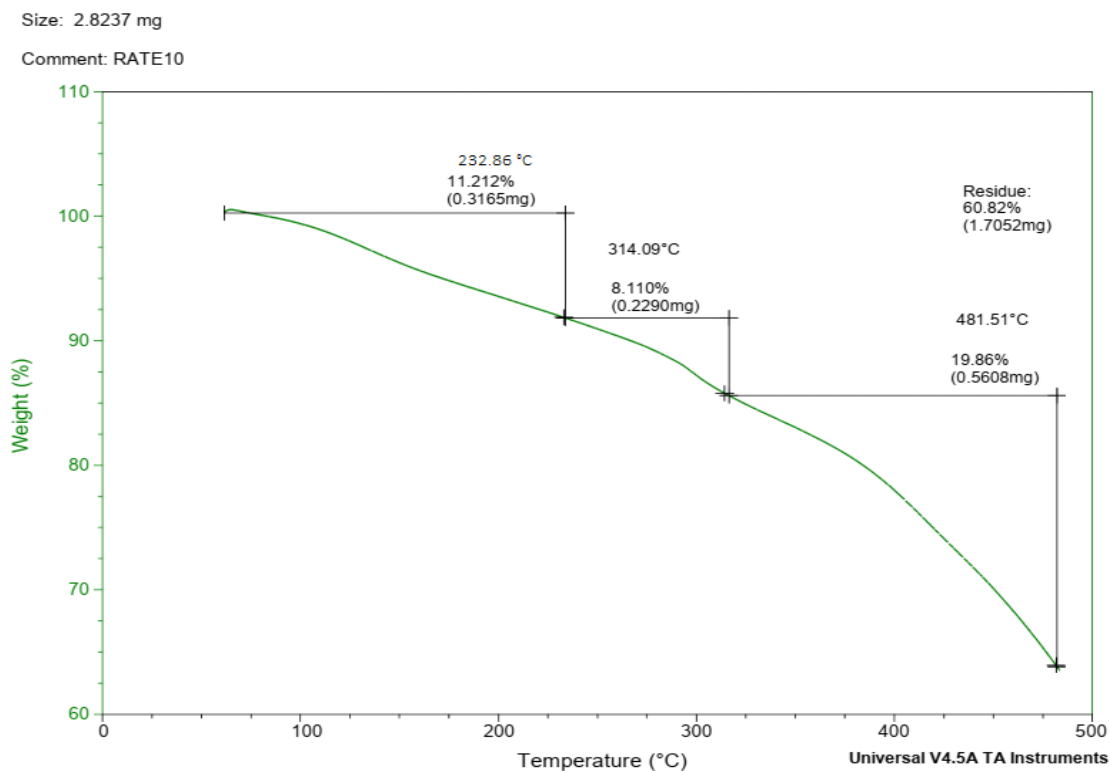


Рисунок 24.3- Термогравиметрический анализ масла чайного дерева, инкапсулированного наночастицами хитозана

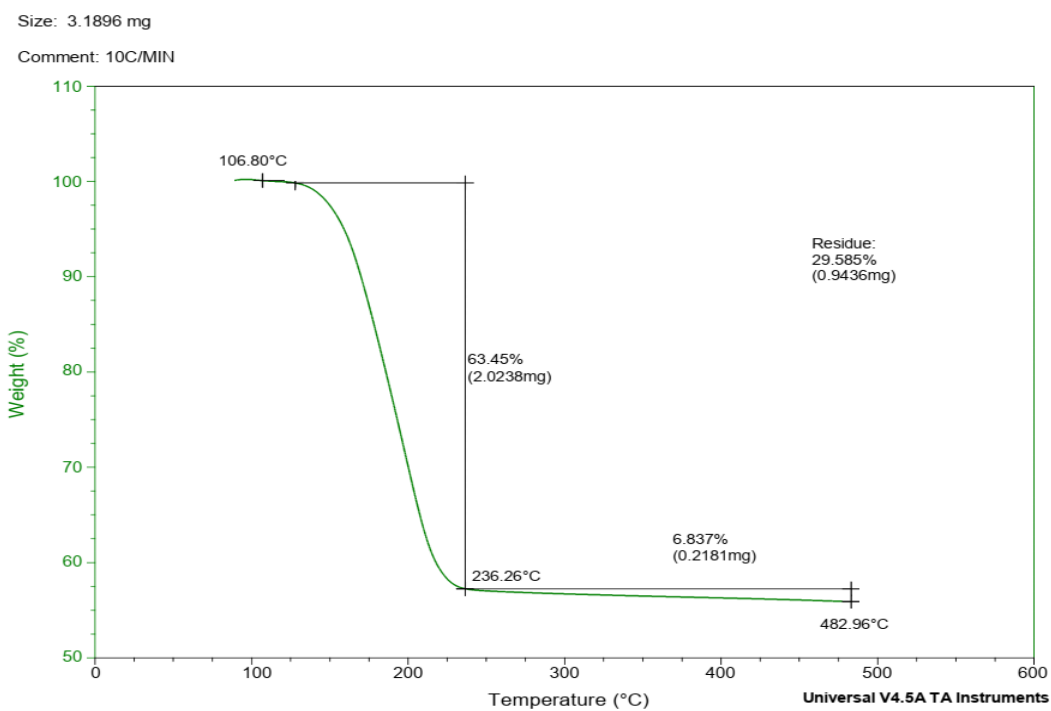


Рисунок 24.4 - Термогравиметрический анализ лавандового масла

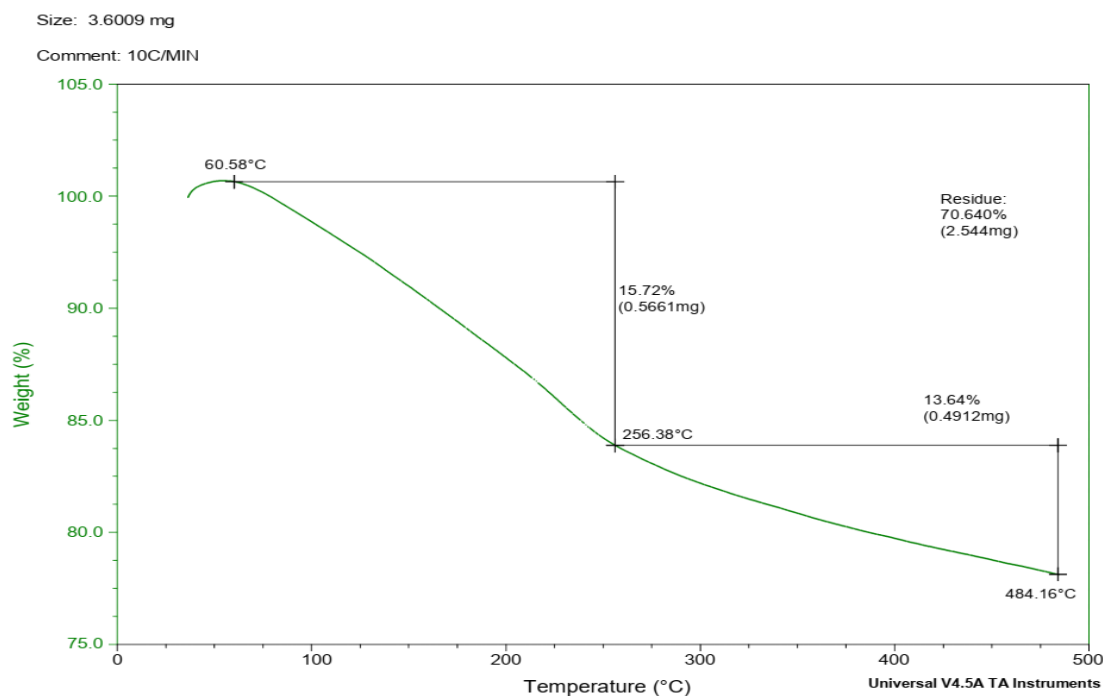


Рисунок 24.5 - Термогравиметрический анализ лавандового масла, инкапсулированного наночастицами хитозана

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

Результаты антифунгальной активности свободного и инкапсулированного эфирных масел и также нанохитозана в отношении роста мицелия фузариоза на рисунке 25 и 26 и альтернариоза приведены на рисунке 27 и 28. Ингибирование роста мицелия было прямо пропорционально концентрации тестируемого материала в питательной среде. Наночастицы хитозана приводили к полному ингибированию роста мицелия *Fusarium* (рисунок 25) и *Alternaria* (рисунок 27) при концентрации 2 г/л. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) свободного и инкапсулированного эфирного масла чайного дерева *Melaleuca alternifolia* в отношении роста мицелия *Fusarium* sp. составляла 4,0 и 1,0 г/л соответственно (рисунок 25). Минимальная ингибирующая концентрация свободного и инкапсулированного эфирного масла лаванды *Lavandula angustifolia* в отношении роста мицелия *Fusarium* sp. составляла 10,0 и 1,0 г/л соответственно (рисунок 25).

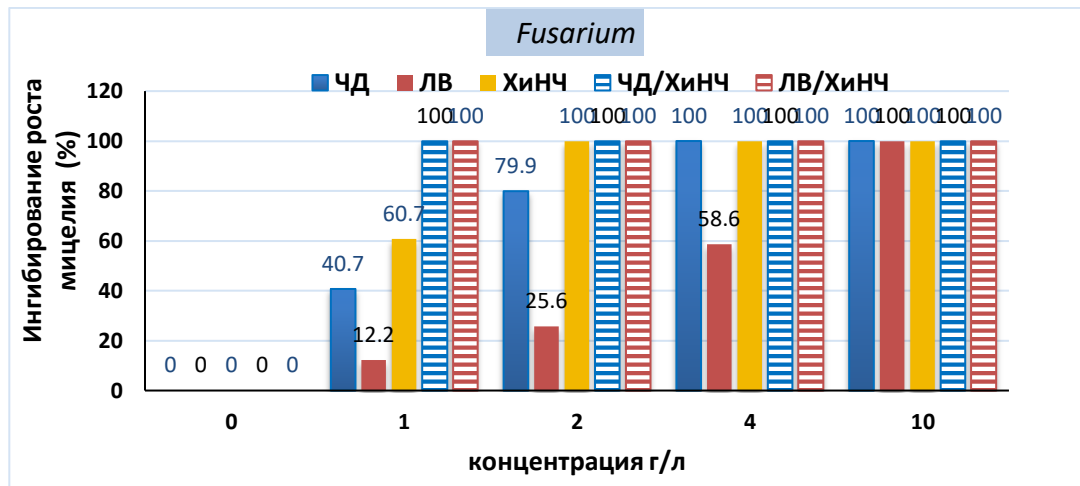


Рисунок 25 – Сравнительная антифунгальная активность свободных и инкапсулированных эфирных масел в отношении роста мицелия *Fusarium* sp. *in vitro*. (ЧД) масло чайного дерева, (ХиНЧ) наночастицы хитозана, (ЧД/ ХиНЧ) масло чайного дерева, инкапсулированное наночастицами хитозана, (ЛВ) масло лаванды, (ЛВ/ ХиНЧ) масло лаванды инкапсулированное наночастицами хитозана.

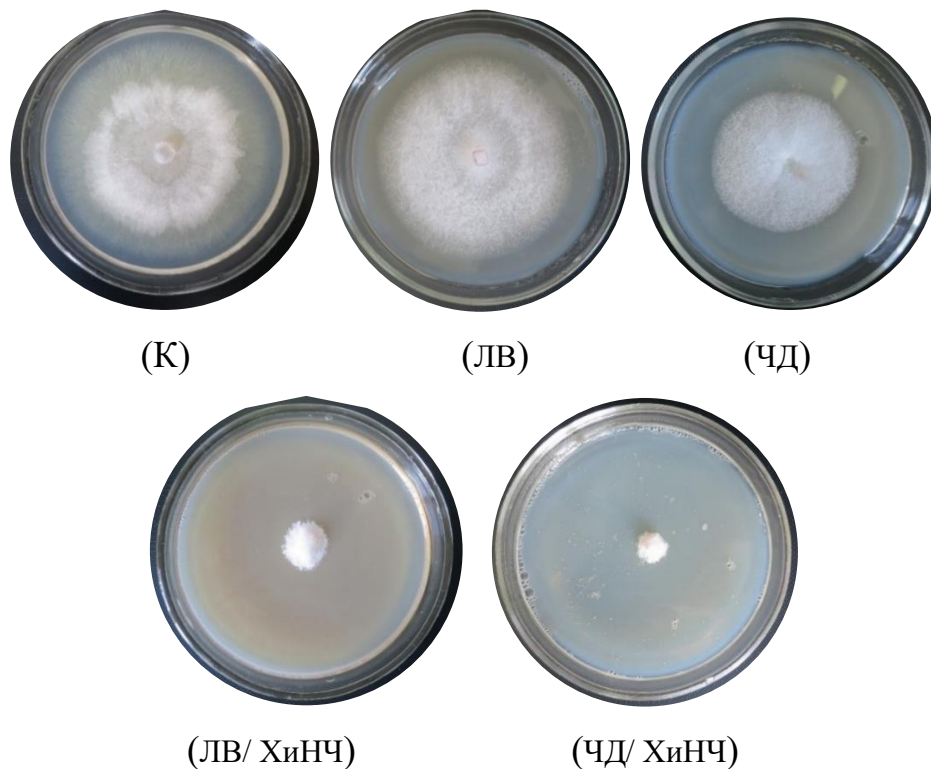


Рисунок 26 – Ингибирование роста мицелия *Fusarium* sp. *in vitro* свободных и инкапсулированных эфирных масел в концентрации 1.0 г/л. (К) контрол, (ЛВ) масло лаванды, (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ/ ХиНЧ) масло лаванды инкапсулированное наночастицами хитозана, (ЧД/ ХиНЧ) масло чайного дерева, инкапсулированное наночастицами хитозана.

Аналогичная тенденция была обнаружена при изучении антифунгальной активности испытуемых материалов в отношении *Alternaria* sp, и *Rhizoctonia* sp. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) свободного и инкапсулированного эфирного масла чайного дерева в отношении роста мицелия *Alternaria* sp. (рисунок 27 и рисунок 28). и *Rhizoctonia* sp. (рисунок 29 и рисунок 30). составляла 4,0 и 1,0 г/л соответственно Минимальная ингибирующая концентрация свободного и инкапсулированного эфирного масла лаванды в отношении роста мицелия *Alternaria* sp. и *Rhizoctonia* sp. составляла 10,0 и 1,0 г/л соответственно (рисунок 27 и рисунок 29).

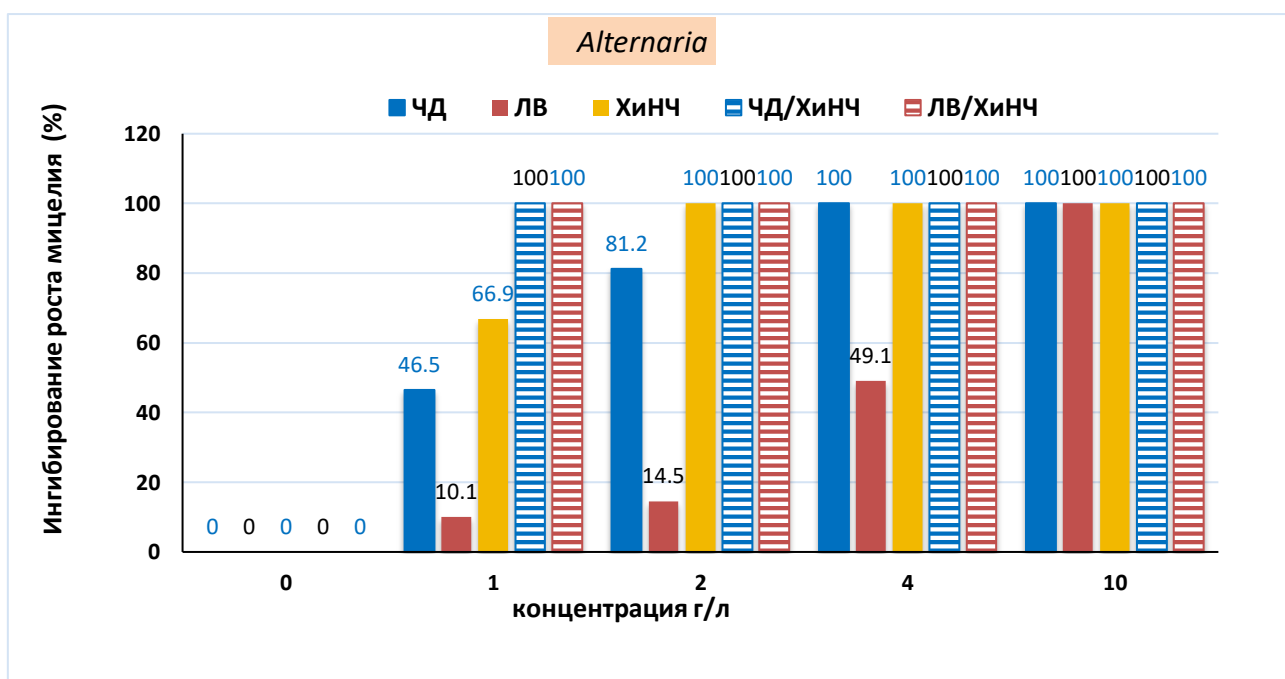


Рисунок 27 – Сравнительная антифунгальная активность свободных и инкапсулированных эфирных масел в отношении роста мицелия *Alternaria* sp. *in vitro*. (ЧД) масло чайного дерева, (ХиНЧ) наночастицы хитозана, (ЧД/ ХиНЧ) масло чайного дерева, инкапсулированное наночастицами хитозана, (ЛВ) масло лаванды, (ЛВ/ ХиНЧ) масло лаванды инкапсулированное наночастицами хитозана.

Обнаружили что инкапсулированные масла чайного дерева и лаванды демонстрирует усиление антифунгальной активности при низких концентрациях 1 г/л по сравнению с свободными маслами при концентрациях 4,0 и 10,0 г/л в отношении роста мицелия *Fusarium* (рисунок 25), *Alternaria* (рисунок 27), и *Rhi-*

zoostonia (рисунок 29). Эти результаты согласуются с Beuyki 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. Эти результаты показали многообещающую роль наночастиц хитозана в качестве носителя эфирных масел с целью усиления их антимикробных свойств. Кроме того, медленное высвобождение сохраненных летучих эфирных масел из наночастиц во время эксперимента приводит к лучшему ингибирующему эффекту, а также усиливает ингибирующий эффект самих наночастиц хитозана.

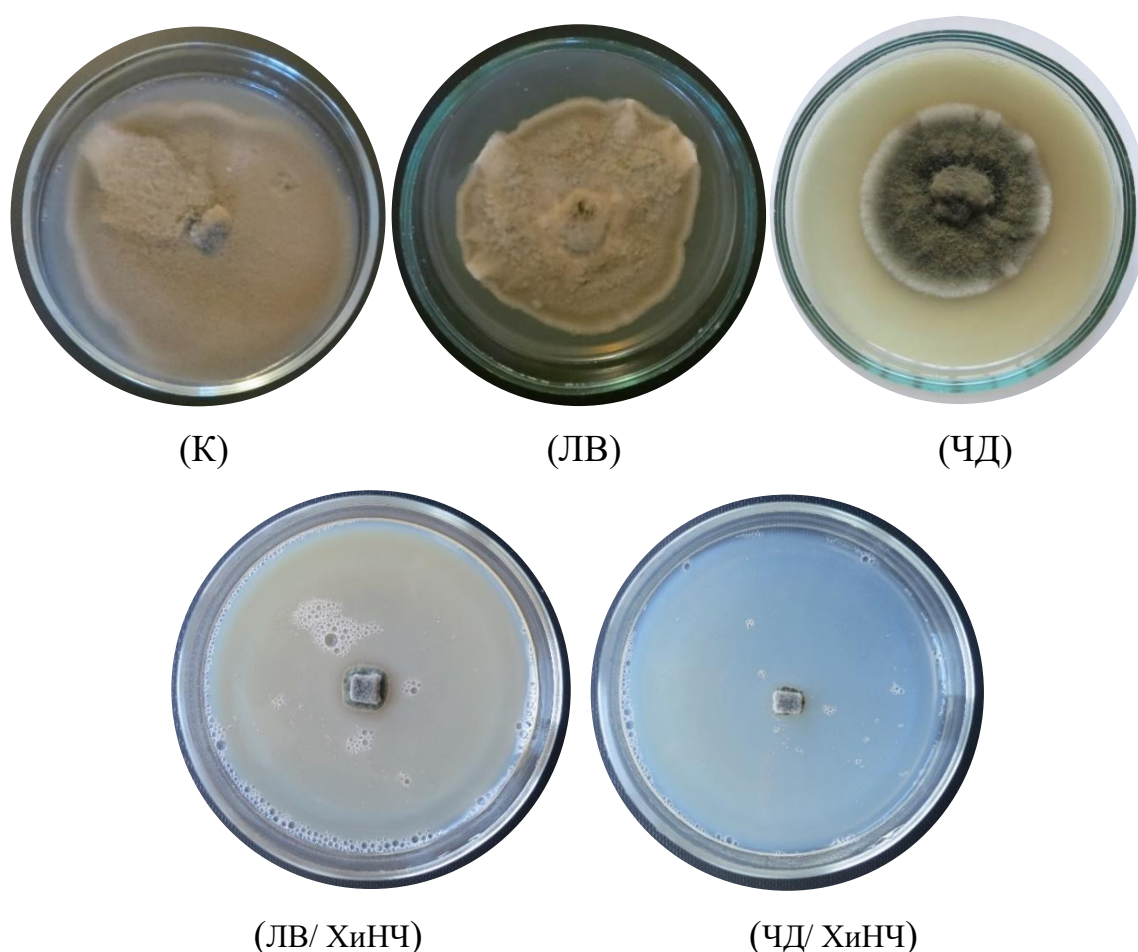


Рисунок 28 – Ингибирование роста мицелия *Aternaria* sp. *in vitro* свободных и инкапсулированных эфирных масел в концентрации 1.0 г/л. (К) контрол, (ЛВ) масло лаванды, (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ/ ХиНЧ) масло лаванды инкапсулированное наночастицами хитозана, (ЧД/ ХиНЧ) масло чайного дерева, инкапсулированное наночастицами хитозана.

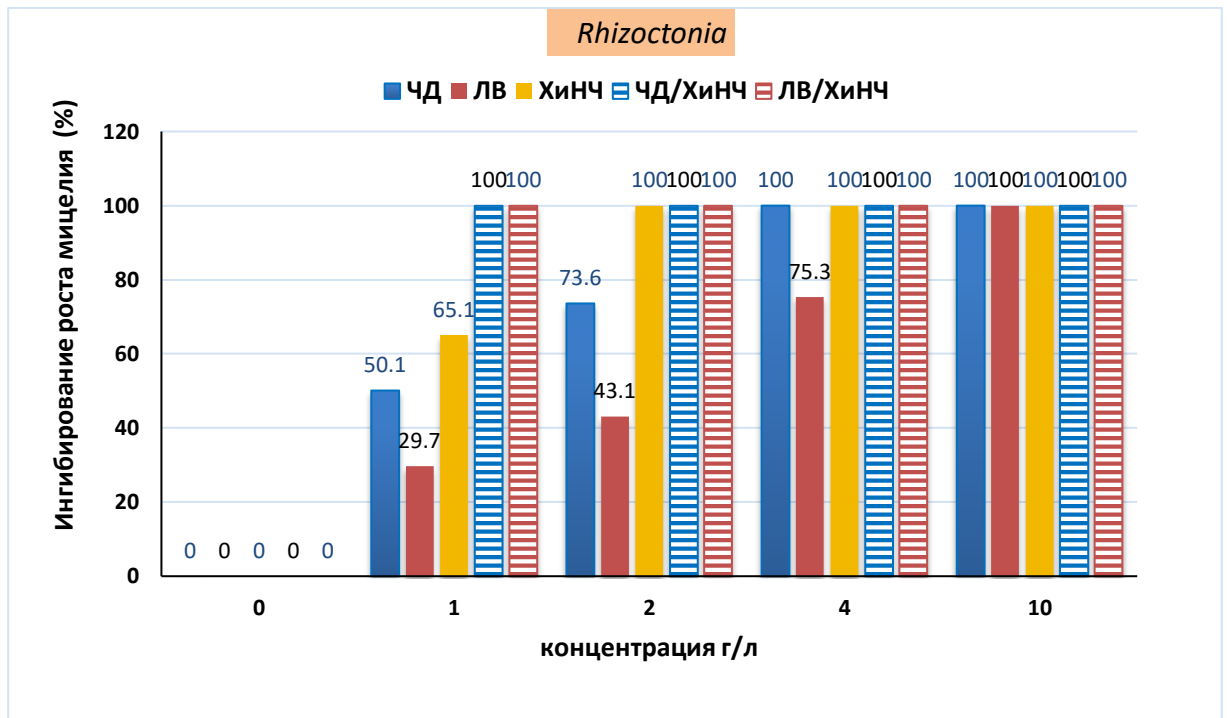


Рисунок 29 – Сравнительная антифунгальная активность свободных и инкапсулированных эфирных масел в отношении роста мицелия *Rhizoctonia* sp. *in vitro*. (ЧД) масло чайного дерева, (ХиНЧ) наночастицы хитозана, (ЧД/ ХиНЧ) масло чайного дерева, инкапсулированное наночастицами хитозана, (ЛВ) масло лаванды, (ЛВ/ ХиНЧ) масло лаванды инкапсулированное наночастицами хитозана.

Применением микрокапсул на основе эфирных масел повышает эффективность эфирного масла путем снижения количества, необходимого для длительного воздействия, тем самым снижая стоимость применения, что делает эфирное масло конкурентоспособным относительно современных синтетических химикатов. Инкапсулирование также стабилизирует эфирные масла относительно окисления и испарения, что является важным для получения продукта, срока хранения, применения и длительности действия при применении (Маркус и Линдер, 2009).

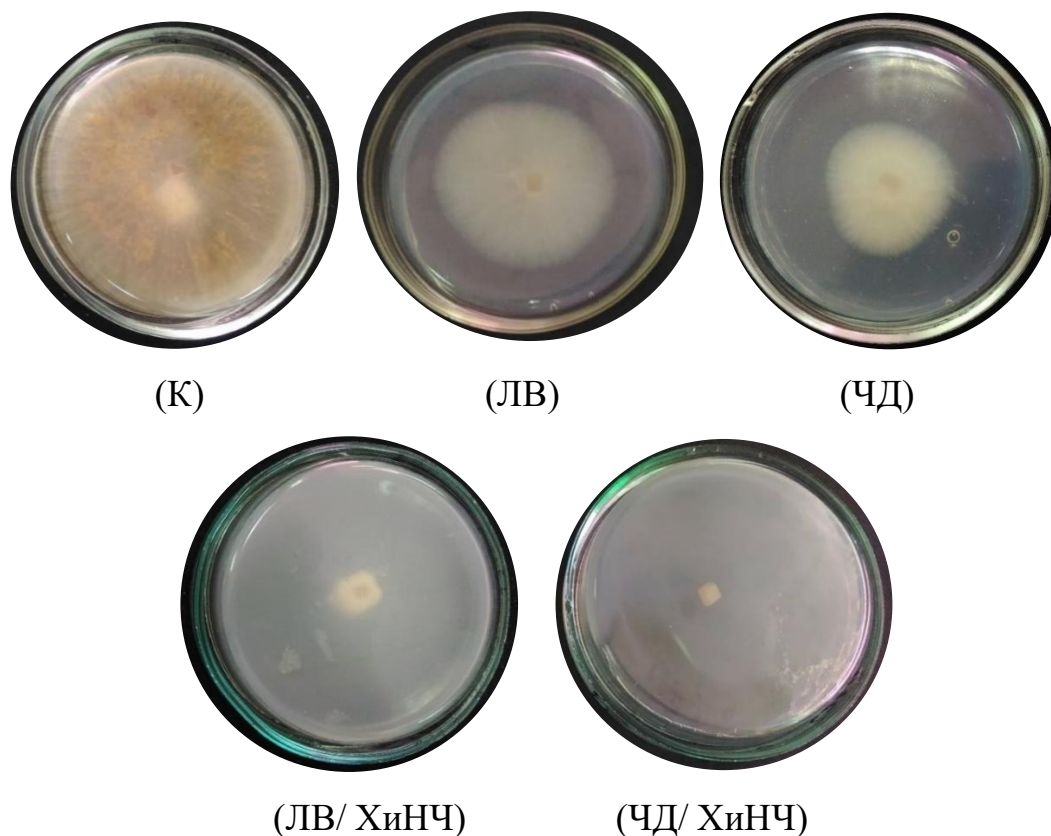


Рисунок 30 – Ингибирование роста мицелия *Rhizoctonia* sp. *in vitro* свободных и инкапсулированных эфирных масел в концентрации 1.0 г/л. (К) контрол, (ЛВ) масло лаванды, (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ/ ХиНЧ) масло лаванды инкапсулированное наночастицами хитозана, (ЧД/ ХиНЧ) масло чайного дерева, инкапсулированное наночастицами хитозана.

3.5. Оценка биологической и экономической эффективности экспериментальных препаратов против сухой гнили картофеля

3.5.1. Оценка биологической эффективности экспериментальных препаратов в лабораторных условиях методом искусственного заражения

Исследования по определению защитного (профилактического) и лечебного (куративного) действия испытуемых препаратов против фузариоза и альтернариоза проводили на клубнях картофеля сорта Ривьера методом искусственного заражения при лабораторных условиях. На рисунке 31 представлены результаты в отношении *Fusarium* sp. при защитном действии. Интенсивность

развития болезни обнаружили в течение 21 дня при комнатной температуре ($21 \pm 2^\circ\text{C}$). Эффективность различных экспериментальных препаратов сравнивали по прямому подавляющему воздействию на развитие болезни. При анализе данных была выявлена достоверная разница между вариантами. Инкапсулированное масло чайного дерева при концентрации 1 г/л является наиболее эффективным вариантом, где биологическая эффективность защиты против фузариоза составляла 97,3% (рисунок 31). Наименьшая эффективность 61,5% наблюдалась при использовании свободного эфирного масла лаванды при концентрации 10 г/л (рисунок 31). Было обнаружено, что инкапсулированные масла чайного дерева и лаванды показали высокий уровень эффективности по сравнению со свободными маслами.

Экстракт почек тополя черного при концентрации 40 г/л значительно снижало интенсивность развития болезни фузариоза в защитной действии, при этом биологическая эффективность достигала 80,1% (рисунок 31).

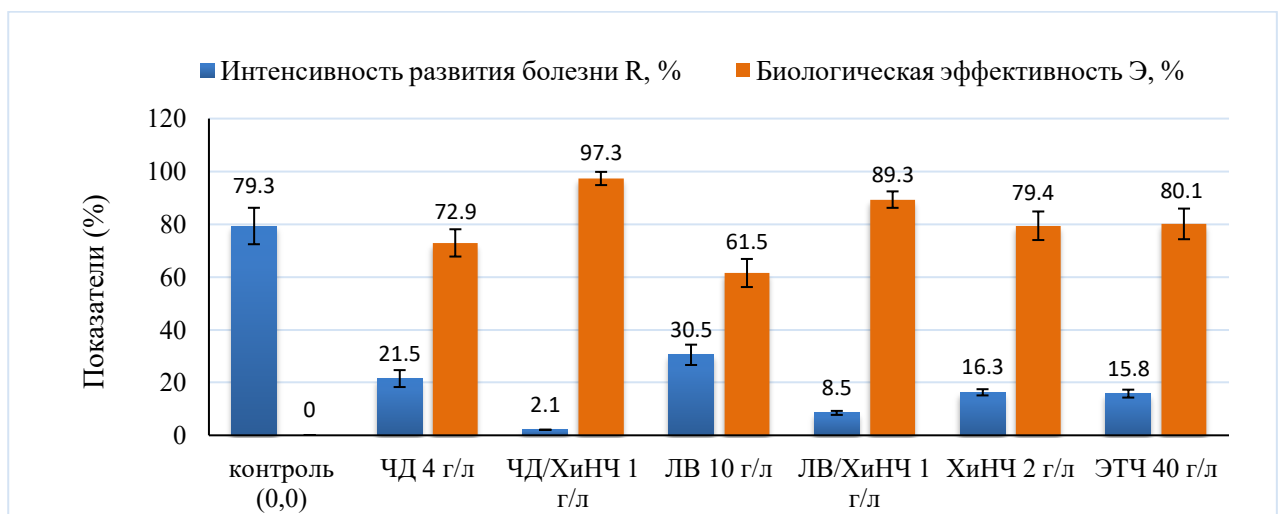


Рисунок 31 – Биологическая эффективность защитного действия экспериментальных инкапсулированных препаратов против *Fusarium* sp на искусственно зараженных клубнях картофеля сорт Ривьера. (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ) масло лаванды, (ХиНЧ) наночастицы хитозана, (ЧД/ ХиНЧ) инкапсулированное масло чайного дерева, (ЛВ/ ХиНЧ) инкапсулированное масло лаванды, (ЭТЧ) экстракт тополя черного. $НСР_{05}$ биологической эффективности = 7,49.

Экспериментальные препараты тестировали в отношении фузариоза также в лечебном действии где клубней картофеля обрабатывали 24 часа после заражения патогеном. Анализ полученных данных показал, что интенсивность развития болезни значительно снижалась всем обработками по сравнению с контролем (рисунок 32). Самая высокая биологическая эффективность 95,8% обнаружено при применении инкапсулированное масло чайного дерева при концентрации 1 г/л (рисунок 32). Наименьшая биологическая эффективность 53,6% наблюдалась при использовании свободного эфирного масла лаванды при концентрации 10 г/л (рисунок 32).

Экстракт почек тополя черного при концентрации 40 г/л значительно снижало интенсивность развития болезни фузариоза в лечебной действии, при этом биологическая эффективность достигала 77,4% (рисунок 32).

Биологическая эффективность защитного действия экспериментальных препаратов определяли в отношении альтернариоз клубней картофеля путем искусственного заражения (клубни заражались через 2 часа обработка) по влиянию на интенсивность развития болезни. Анализ эффективности всех испытываемых вариантов защиты показал, что в варианте инкапсулированных масел чайного дерева и лаванды была самая высокая эффективность 96,7% и 94,1%, соответственно (рисунок 33). В варианте свободного масла чайного дерева была самая низкая эффективность 64,5% (рисунок 33).

Экстракт почек тополя черного при концентрации 40 г/л значительно снижало интенсивность развития болезни альтернариоза в защитной действии, при этом биологическая эффективность достигала 83,5% (рисунок 33).

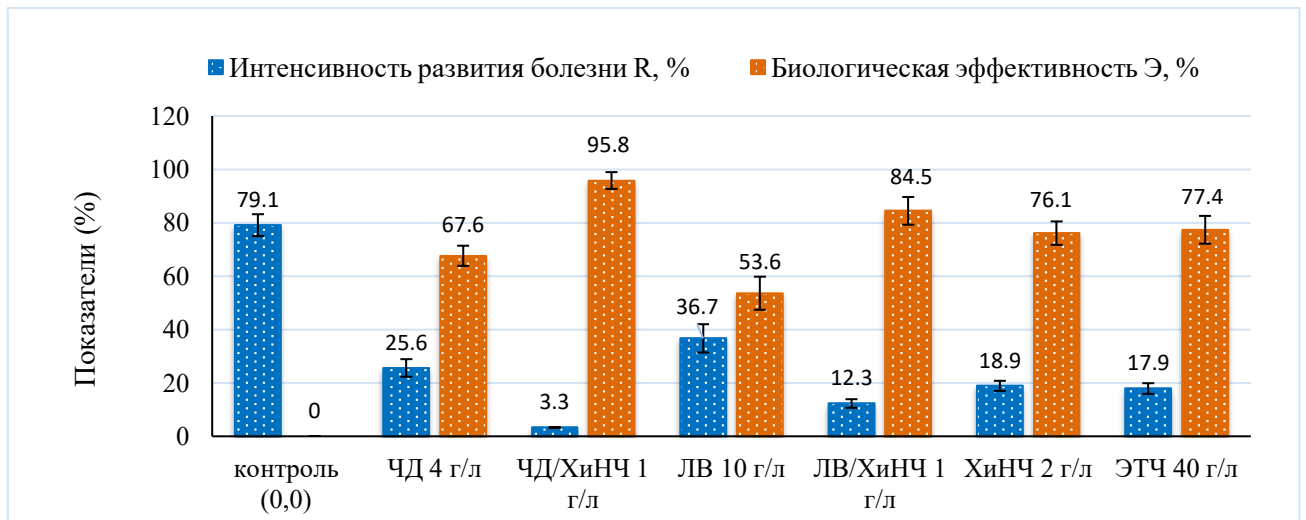


Рисунок 32 – Биологическая эффективность лечебного действия экспериментальных инкапсулированных препаратов против *Fusarium* sp на искусственно зараженных клубнях картофеля сорт Ривьера. (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ) масло лаванды, (ХиНЧ) наночастицы хитозана, (ЧД/ ХиНЧ) инкапсулированное масло чайного дерева, (ЛВ/ ХиНЧ) инкапсулированное масло лаванды, (ЭТЧ) экстракт тополя черного. $НСР_{05}$ биологической эффективности = 7,54

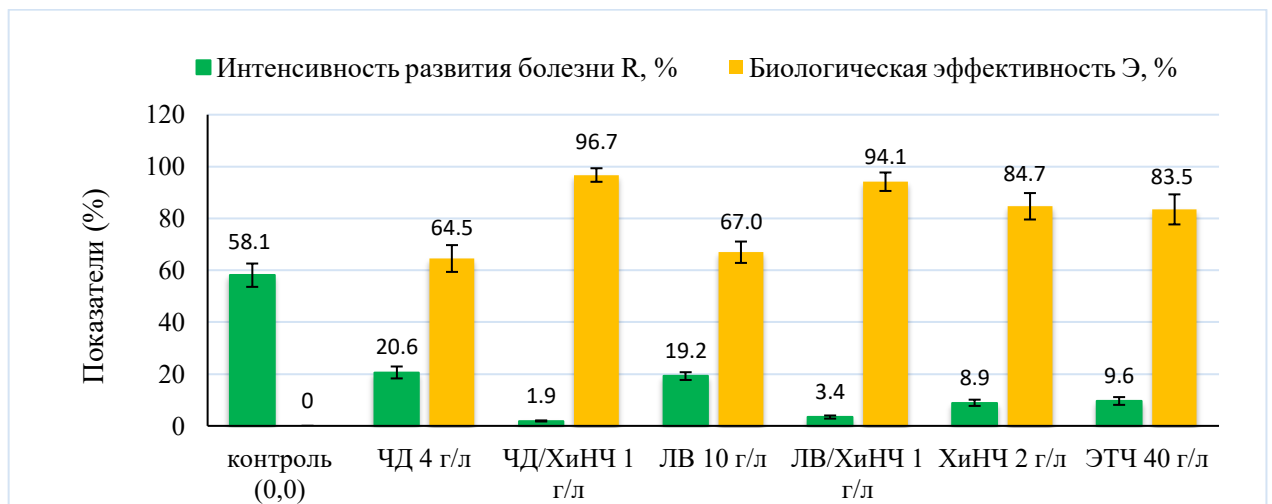


Рисунок 33 – Биологическая эффективность защитного действия экспериментальных инкапсулированных препаратов против *Alternaria* sp на искусственно зараженных клубнях картофеля сорт Ривьера. (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ) масло лаванды, (ХиНЧ) наночастицы хитозана, (ЧД/ ХиНЧ) инкапсулированное масло чайного дерева, (ЛВ/ ХиНЧ) инкапсулированное масло лаванды, (ЭТЧ) экстракт тополя черного. $НСР_{05}$ биологической эффективности = 8,80

Биологическая эффективность лечебного действия экспериментальных препаратов против альтернариоза клубней картофеля определяли 24 часа после заражения патогеном. Самая высокая эффективность 94,5% обнаружили в варианте инкапсулированного масла чайного дерева 1 г/л (рисунок 34).

Свободное эфирное масло чайного дерева показало наименьшую эффективность 54,8% при концентрации 4 г/л (рисунок 34).

Экстракт почек тополя черного при концентрации 40 г/л значительно снижало интенсивность развития болезни альтернариоза в лечебном действии, при этом биологическая эффективность достигала 75,9% (рисунок 34). Результаты показали, что инкапсулированные масла чайного дерева и лаванды проявили биологическую активность против фузариоза и альтернариоза в большей степени, чем свободные масла. Vu et al., (2011) сообщили о более высоком эффективности инкапсулированного лимонена, чем свободные лимонен, эфирных масел мяты перечной, чабреца при защите клубника от порчи при хранении.

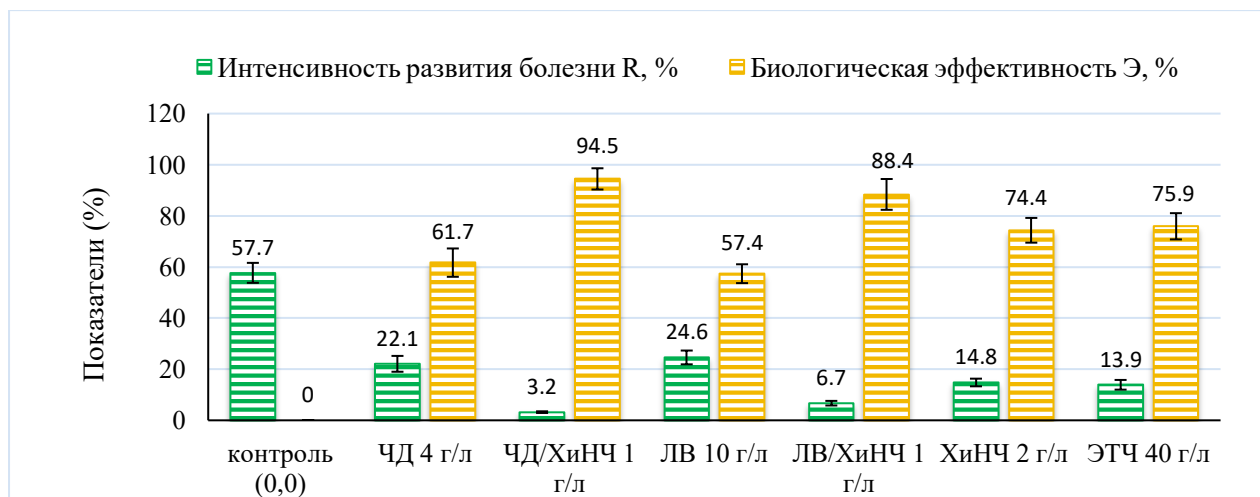


Рисунок 34 – Биологическая эффективность лечебного действия экспериментальных инкапсулированных препаратов против *Alternaria* sp на искусственно зараженных клубнях картофеля сорт Ривьера. (ЧД) масло чайного дерева, (ЛВ) масло лаванды, (ХиНЧ) наночастицы хитозана, (ЧД/ ХиНЧ) инкапсулированное масло чайного дерева, (ЛВ/ ХиНЧ) инкапсулированное масло лаванды, (ЭТЧ) экстракт тополя черного. НСР₀₅ биологической эффективности = 8,65

Недавние исследования *in vivo* некоторых авторов были проведены с применением этанольного экстракта прополиса отдельно или в виде пленки для биоконсервации плодов на разных этапах после сбора урожая (Ali et al., 2013; Mattiuz et al., 2015). А Mattiuz et al., (2015) сообщили, что применение коммерческого спиртового экстракта прополиса, взятого в Бразилии (1,5% по объему) не оказало влияния на рост *Colletotrichum gloeosporioides* на плодах манго после 14 дней инкубации, однако, еще через 7 дней их обработка привела к значительному уменьшению площадей поражения манго по сравнению с контролем. Обработка плодов перца китайским спиртовым экстрактом раствора прополиса (1%, 5% и 10%) повлияла на развитие антракноза, вызываемого *Colletotrichum capsici* (Ali et al., 2015). Известно, что послеуборочная порча цитрусовых чаще всего вызывается видами *Penicillium*. Иракский спиртовой экстракт прополиса (2 и 3%) ингибировал рост *Penicillium digitatum* на апельсинах (Oadi, 2015). Аналогичные результаты были получены в отношении эффективности послеуборочной обработки с использованием экстракта иракского прополиса (3%) против гниения яблок грибным заражением *Penicillium* (Matny et al., 2015). Египетский прополис в дозе 100 мг/мл вызывал более сильное снижение показателя заболеваемости бактериальным увяданием томатов, вызванным *Ralstonia solanacearum*, с эффективностью от 71,7% до 76,9% (Abo-Elyousr et al., 2017). Насколько нам известно, ни в одном исследовании не оценивалась противогрибная активность экстрактов почек черного тополя при послеуборочных заболеваниях картофеля, где в данных исследованиях показана высокая эффективность, простота и доступность препарата и механизма обработки послеуборочных овощей и плодов.

3.5.2. Оценка биологической и экономической эффективности экспериментальных препаратов при хранении картофеля методом естественного заражения

Обработка маслами чайного дерева и лаванды (в свободной или инкапсулированной форме), нанохитозаном, и экстрактом почек тополя черного перед закладкой на хранение клубней картофеля сортов Ривьера и Гала, выращенных на естественном инфекционном фоне грибами видов *Fusarium* и *Alternaria*, снижает распространенность гнилей в течение 8 месяцев в 1,7–4,4 раза (таблица 16). 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 20 г/т и экстрактом жидкого препарата почек тополя черного в норме 400 г/т существенно снижало пораженность возбудителями болезни сухой гнили в 2,1–2,4 раза и между ними (нанохитозан и экстракт почек тополя черного) не было достоверных различий (таблица 16). С другой стороны, при обработке свободным маслом чайного дерева в норме 40 г/т и лаванды в норме 100 г/т распространенность гнилей снизилась всего в 1,7 раз по сравнению с контролем.

В результате изучения влияния обработки тестируемыми препаратами на степень развития болезни сухой гнили при хранении картофеля установлено, что в случае нанопрепаратов масел чайного дерева и лаванды в норме 10 г/т являлось наиболее эффективным и существенно снижало степень развития болезни в 10,0–12,3 раза. Обработка нанохитозаном в норме 20 г/т и экстрактом почек тополя черного в норме 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 16).

Анализ биологической эффективности всех испытываемых вариантов защиты 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 10 г/л, соответственно (таблица 17).

Таблица 16 –Влияние применения экспериментальных препаратов на распространенность и развитие сухой гнили при хранении картофеля (средние за 2020–2022 гг.)

Вариант	Всего сухих гнилей (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 с контролем при $p \leq 0,05$.

С другой стороны, при обработке свободным маслом чайного дерева в норме 40 г/т и лаванды в норме 100 г/т степень развития болезни снизилась всего в 1,6–1,9 раза по сравнению с контролем (таблица 16).

Эффективность экстракта почек тополя черного в норме 400 г/т составила 59,1%. В опытных вариантах со свободными маслами чайного дерева в норме 40 г/т и лаванды в норме 100 г/т обнаружена самая низкая биологическая эффективность 43,2% и 42,0%, соответственно (таблица 17).

По снижению развития болезни, обработка инкапсулированными маслами чайного дерева и лаванды в норме 10 г/т является наиболее эффективным, при этом эффективность достигла 91,8% и 90,0%, соответственно (таблица 17). В вариантах с применением экстракта почек тополя черного в норме 400 г/т была отмечена эффективность 72,9% (таблица 17). Наименьшая эффективность

38,7% отмечена в варианте с применением свободного масла лаванды в норме 100 г/т.

Таблица 17 – Биологическая эффективность экспериментальных препаратов против сухой гнили при хранении картофеля (в среднем за 2020–2022 гг.)

Вариант	Всего сухих гнилей (фузариоза и альтернариоза)	
	Снижение распространённости 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 $p \leq 0,05$

Сухая гниль развивается во время хранения, наиболее быстро, когда клубни хранятся при высокой влажности и температуре 15-20 °С. Сухая гниль развивается даже при самых низких температурах, используемых для хранения картофеля (Stevenson et al., 2001).

Тиабендазол (ТБЗ) - один из самых популярных фунгицидов, который используется для борьбы с фузариозной сухой гнилью картофеля во время хранения. Тиабендазол широко использовался до тех пор, пока в конце 1980-х годов появились устойчивые к нему штаммы (Langerfeld, 1986). Во всех исследованиях устойчивости к тиабендазолу *Fusarium sambucinum* имел большую долю резистентных штаммов, от 42 до 100% из протестированных штаммов (Gachango et al., 2012b). В связи с растущими опасениями по поводу

воздействия химических фунгицидов на здоровье человека и окружающую среду, а также развития резистентности к ним, были протестированы различные биологические препараты с различными биологически активными соединениями для борьбы с сухой гнилью.

Использование эфирных масел для послеуборочной обработки в конечном итоге стало бы интересной альтернативой синтетическим химическим фунгицидам, поскольку растительные эфирные масла общепризнаны как безопасные и широко используются в пищевой промышленности. Многие растительные эфирные масла показали активность *in vitro* против некоторых видов *Fusarium* и некоторую эффективность в борьбе с сухой гнилью *in vivo*. Известно, что при использовании паров карвона, они предотвращали развитие сухой гнили, вызываемой *Fusarium sulphureum*, но не *Fusarium solani* (Gorris et al., 1994). Пары цинеола и ментола заметно уменьшали гниль клубней, инокулированных двумя штаммами *Fusarium sambucinum* (Vaughn and Spencer, 1994). Фумигация клубней эфирным маслом чеснока (*Allium sativum* L.) уменьшала выраженность сухой гнили, вызываемой *F. solani* (Bång, 2007). Эфирные масла орегано (*Origanum vulgare* L.), тимьяна (*Thymus capitatus* Hoff. et Link.), диктамнуса (*Origanum dictamnus* L.) и майорана (*Origanum majorana* L.) полностью ингибировали рост *F. coeruleum* (Daferera et al., 2003), где лаванда (*Lavandula angustifolia* Mill.), розмарин (*Rosmarinus officinalis* L.), шалфей (*Salvia fruticosa* Mill.), мята королевская (*Mentha pulegium* L.), тмин (*Carum carvi* L.), кассия (*Cinnamomum Aromaticum* Nees), эфирные масла тмина (*Cuminum cyminum* L.), укропа (*Anethum Graveolens* L.) и мяты колосовой (*Mentha spicata* L.) показали меньшую ингибирующую активность *in vitro* (Gorris et al., 1994; Daferera et al., 2003).

Sun et al., (2008) и Li et al., (2009b) сообщили, что применение хитозана уменьшает диаметр поражения клубней картофеля, инокулированных *Fusarium sulphureum* и *Fusarium solani*. Повышение активности защитных ферментов и содержания фенола и лигнина, связанное с механизмом индуцированной резистентности, также наблюдалось в картофеле, обработанном хитозаном

Эфирное масло чайного дерева *Melaleuca alternifolia*, содержит много компонентов, в основном терпены и их спирты, было обнаружено, что оно является эффективным антисептиком, бактерицидом (Carson and Riley, 1993; Carson et al., 2006), а в последнее время — эффективным фунгицидом (Shao et al., 2013 a, b; Reuveni et al., 2020). Его активность вызвала вопросы относительно его способности действовать не только как биофунгицид или биобактерицид, но и системно вызывать устойчивость растений (Dalio et al., 2020). На многих культурах, включая бананы и фруктовые деревья, ЧД оказался эффективным против широкого спектра фитопатогенных грибов (Reuveni et al., 2009; Vardi and Reuveni, 2009). Масло ЧД применяли к растениям банана, зараженным *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc, Race 1), вызывающим фузариозное увядание, и растениям томатов, зараженных *Xanthomonas campestris*. Параметры для оценки индукции резистентности включали: развитие заболевания, ферментативную активность, экспрессию генов защиты, коррелирующую с системной приобретенной резистентностью и индуцированной системной резистентностью, а также эффект праймирования. Dalio et al., (2020) обнаружили, что обработка бананов и томата маслом чайного дерева привело к индукции резистентности против *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* и *Xanthomonas campestris*.

Хотя эфирные масла зарекомендовали себя как хорошие противомикробные средства, их применение для поддержания качества сельскохозяйственной продукции и уменьшения грибного поражения часто ограничено из-за содержащихся в них летучих соединений, которые могут легко разрушаться под действием температуры, давления, света и кислорода. Кроме того, для определенных применений требуется контролируемое высвобождение (Martín et al., 2010). Следовательно, контролируемая или длительная доставка имеет решающее значение для получения максимальной пользы от использования эфирных масел в качестве противомикробных средств. Технология нано- и микрокапсулирования эфирных масел может быть практичным и эффективным подходом к решению некоторых из этих проблем,

таких как физическая нестабильность, и повышение их биологической активности, в то же время контролируя послеуборочные разрушения, снижая процессы диффузии и поддерживая высокие концентрации активных молекул на поверхности продуктов (Aloui et al., 2014). В этом отношении носители наноразмера обеспечивают большую площадь поверхности и, возможно, могут повысить биодоступность и улучшить контролируемое высвобождение инкапсулированных биологически активных фунгицидных ингредиентов по сравнению с носителями микроразмера (Mozafari et al., 2006).

Недавно было проведено несколько исследований антимикробной активности хитозана отдельно или в комбинации с другими природными агентами (Aloui et al., 2014). Хитозан в сочетании с эфирным маслом *Cinnamomum zeylanicum* продемонстрировал сильную противогрибную активность в отношении *Phytophthora drechsleri*, возбудителя плодовой гнили огурцов, в лабораторных условиях и при нанесении в качестве покрытия на огурцы. Эфирное масло *Cinnamomum zeylanicum* обладает превосходными свойствами при инкапсуляции наночастицами хитозана как в условиях *in vitro*, так и *in vivo* по сравнению со свободным маслом (Mohammadi et al., 2015). Результаты данных исследований показали, что нанопрепараты эфирного масла чайного дерева и эфирного масла лаванды, инкапсулированные наночастицами хитозана, показали высокую биологическую эффективность по сравнению со свободными маслами, и эти результаты согласуются с Mohammadi et al., (2015), которые обнаружили, что инкапсулированные масла *Cinnamomum zeylanicum* в концентрации 1,5 г/л значительно снижали как степень заболевания, так и распространенность болезни огурцов, зараженных фитофторой на 100%, в течение 7 дней хранения при температуре 4°C, а затем еще 2-3 дня при температуре 20°C. Однако свободное эфирное масло снизило распространенность болезни на 75,84% по сравнению с контролем (Mohammadi et al., 2015).

Экономическая эффективность экспериментальных препаратов против сухой гнили при хранении картофеля.

Перспектива развития отрасли картофелеводства во многом зависит от её экономической эффективности (Волкова, 2010; Баканов, 2011). Уровень экономической эффективности дает представление, ценой каких затрат достигнут экономический эффект (Черенков, 2016). Расчёт экономической эффективности данного приёма обработок заключается в снижении потерь продовольственного картофеля при хранении, получении прибыли от реализации сохраненной продукции после хранения, и повышении рентабельности производства картофеля.

Снижению потерь при хранении способствует также осенняя обработка клубней при закладке на хранение химическими и биологическими препаратами (Пшеченков, 2007; Колошеин, 2017). Расчет экономической эффективности применения экспериментальных препаратов основан на затратах обработки и чистом доходе (от реализации сохраненной продукции) (Зейрук и др., 2019).

Уровень рентабельности применения инкапсулированных масла чайного дерева и лаванды, и жидкого экстракта почек тополя черного была выше по сравнению с остальными вариантами обработки и составила 490,6%, 487,3%, и 385,0% соответственно (таблица 18).

Таблица 18 - Экономическая эффективность экспериментальных препаратов против сухой гнили при хранении картофеля
(в среднем за 2020–2022 гг.)

Показатели	Варианты обработок						
	Контроль	Масло чайного дерева 40 г/т	Масло лаванды 100 г/т	Нанохитозан 20 г/т	инкапсулированное масло чайного дерева 10 г/т	инкапсулированное масло лаванды 10 г/т	Экстракт почек тополя черного 400 г/т
Потери в расчёте на 1 т, центнер	1,64	0,93	0,95	0,78	0,37	0,43	0,67
Сохраненная продукция с 1 т, центнер	-	0,71	0,69	0,86	1,27	1,21	0,97
Всего затрат на обработку 1 т, руб.	-	280	460	220	215	206	200
Цена реализации сохраненной продукция, руб.	-	710	690	860	1270	1210	970
Чистый доход, руб.	-	430	230	640	1055	1004	770
Уровень рентабельности, %	-	153,5	50,0	290,9	490,6	487,3	385,0

ВЫВОДЫ

В результате реализации цели разработки методов биологической защиты клубней картофеля от послеуборочных грибных заболеваний инкапсулированными нанохитозаном эфирными маслами и экстрактами, были сделаны 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 инкапсулированного 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 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 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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агроклиматические ресурсы Астраханской области. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1974. – 136 с.
2. Адекенов С.М. Комплексные соединения на основе оксима пиностробина / С.М. Адеке-нов, Г.М. Байсаров, А.Н. Жаббаева, Л.П. Сунцова, А.В. Душкин // Химия растительного сырья. — 2021. — № 1. — р. 219–226.
3. Баканов, М.И. Теория экономического анализа: учебник / М.И. Баканов, А.Д. Шеремет. – М.: Финансы и статистика, 2011. – 269 с.
4. Боева, Т. В. Развитие картофелеводства в Астраханской области / Т. В. Боева, Р. И. Дубин // Овощеводство и бахчеводство открытого грунта. Проблемы и перспективы развития: Материалы международного научно-практического семинара, Солёное Займище, 28 июля 2016 года / Составитель: Щербакова Н.А.. – Солёное Займище: Прикаспийский НИИ аридного земледелия, 2016. – С. 124-128. – EDN WYGGNN.
5. Бебре Г.Т. Разработка методов оценки клубней картофеля на устойчивость к фузариозной гнили и изучение селекционного материала по этому признаку / Г.Т. Бебре // Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – М., 1988. – 16 с.
6. Бышко, Н. А. Использование эфирных масел для подавления фитопатогенной микрофлоры плодоовощей / Н. А. Бышко, А. И. Машанов, Р. А. Степень // Фундаментальные исследования. – 2004. – № 3. – С. 97-98. – EDN IUJFLV.
7. Белоконь, М. А. Использование сшивающих реагентов ковалентного или ионного типа для получения материалов медико-биологического назначения на основе гидрогелей хитозана : специальность 05.17.06 "Технология и переработка полимеров и композитов" : диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук / Белоконь Мария Александровна, 2017. – 152 с. – EDN UOWYTS.
8. Бондаренко, А. Н. Усовершенствование способов возделывания раннего картофеля в зоне светло-каштановых солонцеватых почв Астраханской об-

- ласти / А. Н. Бондаренко, А. В. Тютюма // Новые технологии. – 2023. – Т. 19, № 3. – С. 107-118. – DOI 10.47370/2072-0920-2023-19-3-107-118.
9. Браславский В.Б. Антимикробная активность экстрактов и эфирных масел почек некоторых видов *Populus L.* / В.Б. Браславский, В.А. Куркин, И.П. Жданов // Раст. ресурсы. — 1991. — Т.27, вып. 2. — р. 77–81.
 10. Браславский В.Б. Исследование химического состава некоторых видов тополя (*Populus L.*) / В.Б. Браславский // дис. канд. фарм. наук. — Самара, 1994. — 133 с.
 11. Волкова, Н.А. Экономика сельского хозяйства и перерабатывающих предприятий: учебное пособие / Н.А. Волкова, О.А. Столярова, Е.М. Костерин. — М.: Колос С. - 2010. — 240 с.
 12. Воловик А.С. Гнили клубней картофеля при хранении / А.С. Воловик. — М.: Колос, 1973. — 72 с.
 13. Гончаров Н.Р. Методические подходы к экономической оценке эффективности мероприятий по защите растений в условиях отдельного эксперимента // Вестник защиты растений. 2017. N 3 (93). С. 44–54.
 14. Гусев, С.А. Сортовые особенности семенного и продовольственного картофеля при хранении / С.А. Гусев, Л.Г. Назаренко, З.В. Сазонова // Технология пр-ва картофеля. - 1987. - С. 106–114.
 15. Еланский, С. Н. Видовой состав и структура популяций возбудителей фитофтороза и альтернариоза картофеля и томата: специальность 03.02.12 "Микология": диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Еланский Сергей Николаевич. — Москва, 2012. — 325 с.
 16. Еланский, С. Н. Популяции фитопатогенного гриба *Phytophthora infestans* (Mont. de Bary на территории России: диссертация ... кандидата биологических наук: 03.00.24. - Москва, 1998.- 122 с.
 17. Устойчивость *Helminthosporium solani*, *Colletotrichum coccodes* и *Rhizoctonia solani* к фунгицидам, используемым для обработки клубней картофеля / С. Н. Еланский, М. А. Побединская, И. А. Кутузова [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – Т. 32, № 3. – С. 50–53.

18. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков / Б. В. Анисимов, Б. В. Анисимов, Белов Г. Л., Варицев Ю.А и др. – М.: Картофелевод, 2009. – 137 с
19. Современные производственные факторы, определяющие биологическую и экономическую эффективность хранения картофеля / В. Н. Зейрук, С. В. Мальцев, С. В. Васильева, В. А. Бызов // Хранение и переработка сельхоз-сырья. – 2019. – № 3. – С. 20-28. – DOI 10.36107/spfp.2019.177. – EDN PWWHYD.
20. Игнатов, А. Н. Генетическое разнообразие фитопатогенных бактерий *Xanthomonas campestris* и устойчивость к ним растений семейства Brassicaceae : специальность 06.01.11 : диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Игнатов Александр Николаевич. – Москва, 2006. – 295 с.
21. Ильященко Д.А. Эффективность методов оценки селекционного материала картофеля на устойчивость к сухой фузариозной гнили / Д.А. Ильященко // Иммунология, аллергология, инфектология. — 2010. — № 1. — С. 253–254.
22. Каухова, И. Е. Особенности экстрагирования биологически активных веществ двухфазной системой экстрагентов при комплексной переработке лекарственного растительного сырья // Растительные ресурсы. 2006. Т. 42. вып. 1. С. 82–91.
23. Колошеин Д.В. Снижение потерь картофеля и энергопотребления системы вентиляции картофелехранилища совершенствованием воздуховода: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук. Рязань, 2017. 19 с.
24. Макеева А.М. Видовой состав возбудителей сухих гнилей клубней картофеля / А.М. Ма-кеева // Актуальные вопросы агрономической науки в XXI веке: сб. научн. тр. — Самара, 2004. — С. 237–240.

25. Матвеева В. Г. и др. Оптимизация условий синтеза наночастиц хитозана // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2022. № 3(49). С. 13–20.
26. Малюга А. А. Видовой состав и патогенность грибов рода *Fusarium*, вызывающих сухую гниль клубней картофеля в Западной Сибири / А. А. Малюга // Микология и фитопатология. - 2003. - Т. 37, вып. 4. - С.84-91.
27. Малюга А.А. Сухие фомозно-фузариозные гнили клубней картофеля при хранении / А.А. Малюга / РАСХН. Сиб. отделение Сиб НИИЗ Хим. — Новосибирск, 2007. — 108 с.
28. Методика исследований по культуре картофеля. - М.: НИИКХ, 1967. - 264 с.
29. Мохаммед, С. Р. Использование эфирных масел кумина и лаванды в борьбе с фомозом картофеля при хранении / С. Р. Мохаммед, А. В. Мельников // Аграрный научный журнал. – 2020. – № 11. – С. 39-42. – DOI 10.28983/asj.y2020i11pp39-42. – EDN GSFMFT.
30. Мехтиева, Н. П. Компонентный состав и антифунгальная активность экстракционного масла *Eupatorium cannabinum* L. Флоры Азербайджана / Н. П. Мехтиева, С. В. Серкерев, К. Ф. г. Бахшалиева // Химия растительного сырья. – 2010. – № 2. – С. 139-142. – EDN MTCSIP.
31. Нефедова Л.М. Методика опытного дела в овощеводстве и бахчеводстве / Л.М. Нефедова. – М.: Агропромиздат, 1992. – 319 с.
32. Устойчивость возбудителей альтернариоза картофеля и томата к фунгицидам / М. А. Побединская, П. Н. Плуталов, С. С. Романова [и др.] // Микология и фитопатология. – 2012. – Т. 46, № 6. – С. 401–408.
33. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья // М. 1976. 202 р.
34. Пономарев, В. Д. Экстрагирование лекарственного сырья. М., Медицина, 1976. 202 с. Пат. №1857313 (РФ). Экстракт солодки голой, обладающий противотуберкулезной активностью /Л.Т. Сухенко, Г. Н. Назарова, Н. Г. Урляпова // Бюл. 2009. № 21.

35. Патент № 2347608 С2 Российская Федерация, МПК В01J 13/16, А01N 25/28, А01N 65/00. Инкапсулированные эфирные масла : № 2005138511/04 : заявл. 06.05.2004 : опубл. 27.02.2009 / А. Маркус, Ч. Линдер ; заявитель БЕН-ГУРИОН ЮНИВЕРСИТИ ОФ ДЗЕ НЕГЕВ РИСЕРЧ ЭНД ДИВЕЛОПМЕНТ ОТОРИТИ. – EDN TLKYTE.
36. Попова Э.В. Наночастицы хитозан-триполифосфат: синтез методом ионного гелеобразования, свойства и биологическая активность / Э.В. Попова, И.М. Зорин, Н.С. Домни, И.И. Новикова, И.Л. Краснобаева // Журнал общей химии. — 2020. — Vol. 90(7). — p. 1124–1132.
37. Пшеченков К.А., Зейрук В.Н., Еланский С.Н., Мальцев С.В. Технологии хранения картофеля. М.: Картофелевод, 2007. 192 с.
38. Сухенко Л.Т. Дикорастущие растения флоры юга России как источник ценных фитоконпонентов с противомикробными и биорегуляторными свойствами / Л.Т. Сухенко // М. : Кнорус. — 2017. — 304 с.
39. Сухенко Л.Т., Назарова Г.Н. У.Н.Г. Экстракт солодки голой, обладающий противотуберкулезной активностью: пат. Патент №1857313 (РФ) USA. Russian Federation, 2009.
40. Сухенко Л. Т., Курашов Е. А., Крылова Ю. В. Химический состав и биологические свойства почек *populus nigra* L. каспийского региона // Химия растительного сырья, 2023. № 3. С. 153–161.
41. Технология производства картофеля в Астраханской области: Рекомендации. – Издание третье, переработанное и дополненное. – Астрахань: Индивидуальный предприниматель Сорокин Роман Васильевич (Издатель: Сорокин Роман Васильевич), 2014. – 100 с. – ISBN 978-5-91910-192-5. – EDN TRAZMV.
42. Флора Нижнего Поволжья / Н. Ю. Степанова, И. А. Шанцер, М. Б. Носова [и др.]. Том 2, Часть 2. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью Товарищество научных изданий КМК, 2018. – 519 с. – ISBN 978-5-907099-55-5. – EDN PFGWCY.

43. Челобанов, Н. В. Земледелие в Астраханской области / Н. В. Челобанов. – Астрахань: Факел, 1998. – 432 с.
44. Черенков А.А. Применение защитно-стимулирующих средств при хранении и производстве семенного картофеля/ А.А. Черенков // Дис. ... канд. биол. наук. М. 2016.
45. Чулкина В.А. Патогенные фузариозы на картофеле в Сибири / В.А. Чулкина, М.М. Трушко // Tag. – Ber. Acad. Landwirtsch. – Wiss. DDR. – Berlin. – 1978. – № 157. – S. 55-59.
46. Abdolahi A. Essential oils as control agents of postharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits / A. Abdolahi, A. Hassani, Y. Ghosta, T. Javadi, M.H. Meshkatsadat // J. Food Saf. — 2010. — p. 341–352.
47. Abo-El-Seoud M.A. Bioside formulation of essential oils having antimicrobial activity / M.A. Abo-El-Seoud, M.M. Sarhan, A.E. Omar, M.M. Helal // Arch. Phytopathol. Plant Prot. — 2005. — p. 175–184.
48. Abo-Elyousr K.A.M. et al. Effectiveness of Egyptian propolis on control of tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* // J. Plant Dis. Prot. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 2017. Vol. 124, № 5. P. 467–472.
49. Abu O.A.A.S.M. Control of dry and soft rot diseases of potato tubers using essential oils, fungi-cides, and antagonistic fungi / O.A.A.S.M. Abu, E.S.S.M.A. Samah, A. El-Debaky // the egyptian journal of experimental biology (Botany). — 2015. — №4. — p. 1-1.
50. Adolf B. “Early Blight” / B. Adolf, H. Hausladen // The potato crop: its agricultural, nutritional and social contribution to humankind, edited by Campos, H., & Ortiz, O. Springer Nature, 2020, p. 518.
51. Aider M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review / M. Aider // LWT-Food Science and Technology. — 2010. — Vol. 43(6). — p. 837–842.

52. Aihua L. Biodiversity of cultivable fungi in hair samples from tree shrews / L. Aihua, B. Fukai, M. Li, M. Shi, J. Saising, P. Shen // *Adv Res J Immunol Virol.* — 2013. — №1 (4)- p 69-072.
53. Ali A., Khan Cheong C., Zahid N. Composite Effect of Propolis and Gum Arabic to Control Postharvest Anthracnose and Maintain Quality of Papaya during Storage // *Int. J. Agric. Biol.* 2013. Vol. 16. P. 11171122.
54. Ali A., Wei Y.Z., Mustafa M.A. Exploiting propolis as an antimicrobial edible coating to control post-harvest anthracnose of bell pepper // *Packag. Technol. Sci.* John Wiley and Sons Ltd, 2015. Vol. 28, № 2. P. 173–179.
55. Aloui H. Alginate coatings containing grapefruit essential oil or grapefruit seed extract for grapes preservation / H. Aloui, K. Khwaldia, L. Sanchez-Gonzalez // *International Journal of Food Sci-ence and Technology.* — 2014. — Vol. 49(4). — p. 952-959.
56. Al-Sadi A.M. Occurrence, characterization and management of fruit rot of immature cucumbers under greenhouse conditions in Oman / A.M. Al-Sadi, F.A. Al-Said, S.M. Al-Kaabi // *Phyto-pathol. Med.* — 2011. — №50. — p 421-429.
57. Amidi, M., et al. Preparation and characterization of protein-loaded N-trimethyl chitosan nanoparticles as nasal delivery system. / M. Amidi, S. G. Romeijn, G. Borchard, H. E. Junginger, W. E. Hennink, W. Jiskoot // *Journal of Controlled Release* 111(1): 107–116.
58. Ammar N. Extracts from the Brown Macroalga *Sargassum vulgare* for Postharvest Suppression of Potato Fusarium Dry Rot / N. Ammar, H. Jabnoun-Khiarreddine, A. Nefzi, B. Mejdoub-Trabelsi, M. Daami-Remadi // *Nat Prod Chem Res.* — 2018. — №6:4. — p. 1000329.
59. Askarne L. In vitro and in vivo antifungal activity of several Moroccan plants against *Penicillium italicum*, the causal agent of citrus blue mold / L. Askarne, I. Talibi, H. Boubaker, E. Boudyach, F. Msanda, B. Saadi // *Crop Protection.* — 2012. — №40. — p. 53–58.
60. Assis J.S. Effect of high carbon dioxide concentration on Pal activity and phenolic contents in rip-ening cherimoya fruit / J.S. Assis, R. Maldonado, T.

- Munoz, M.A.I. Escribano, C. Merodio // *Postharvest Biology and Technology*. — 2001. — №23. — p. 33–39.
61. Attia M.F. Management of Potato Post Harvest Tuber Rots by Some Organic Acids and Essential Plant Oils / M.F. Attia, A.M. Naffa // *Egyptian Journal of Phytopathology*. — 2019. — №47(1). — p. 257-276.
 62. Ayad D. First report of early blight caused by *Alternaria protenta* on potato in Algeria / D. Ayad, S. Leclerc, B. Hamon, et al. // *Plant Dis.* — 2017. — №101(5). — p. 836.
 63. Ayala-Zavala J.F. Optimizing the use of garlic oil as antimicrobial agent on fresh-cut tomato through a controlled release system / J.F. Ayala-Zavala, G.A. Gonza'lez-Aguilar // *Journal of Food Science*. — 2010. — Vol. 75(7). — pp. M398-M405.
 64. Aydin M.H. Potato tuber sprout rot caused by *Fusarium sambucinum* in Turkey / M.H. Aydin, F. Pala, C. Kaplan // *Scientific Papers-Series A-Agronomy*. — 2016. — Vol. 59. — p. 189-193.
 65. Bakan J.A. Microcapsule drug delivery systems / J.A. Bakan // *Polymers in Medicine and Surgery*. — 1975. — pp. 213–235.
 66. Bakkali F. Biological effects of essential oils - A review / F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Waomar // *Food and Chemical Toxicology*. — 2008. — Vol. 46(2). — p. 446-475.
 67. Ballester-Costa C. Chemical composition and in vitro antibacterial properties of essential oils of four *Thymus* species from organic growth / C. Ballester-Costa, E. Sendra, J. Fernandez-Lopez, J.A. Perez-Alvarez, M. Viuda-Martos // *Industrial Crops and Products*. — 2013. — Vol. 50. — p. 304-311.
 68. Bång, U., 2007. Screening of natural plant volatiles to control the potato (*Solanum tuberosum*) pathogens *Helminthosporium solani*, *Fusarium solani*, *Phoma foveata* and *Rhizoctonia solani*. *Potato Res.* 50, 185–203.
 69. Bao H. Influence of cetyltrimethylammonium bromide on physicochemical properties and micro-structures of chitosan–TPP nanoparticles in aqueous solu-

- tions / H. Bao, L. Li, H. Zhang // Journal of Colloid and Interface Science. — 2008. — Vol. 328(2). — p. 270–277.
70. Baturo-Ciesniewska A., Lenc L., Grabowski A., Lukanowski A. Characteristics of Polish Isolates of *Fusarium sambucinum*: Molecular Identification, Pathogenicity, Diversity and Reaction to Control Agents / A. Baturo-Ciesniewska et al. — DOI: 10.1007/s12230-014-9410-z.
 71. Bautista-Baños S. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities / S. Bautista-Baños, A.N. Hernández-Lauzardo, M.G. Velázquez-del Valle // Crop Prot. — 2006. — №25. — p 108-118.
 72. Benkeblia N. Postharvest diseases and disorders of potato tuber *Solanum tuberosum* L. / N. Benkeblia // Potatoes Prod. Consum. Health Benefits. — 2012. — №7. — p. 99-114.
 73. Beyki, M., et al. Encapsulation of *Mentha piperita* essential oils in chitosan–cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. Ind. Crops and Prod. – 2014. - Vol. 54. - P. 310–319.
 74. Bhavaniramya S. Role of essential oils in food safety: antimicrobial and antioxidant applications / S. Bhavaniramya, S. Vishnupriya, M.S. Al-Aboody, R. Vijayakumar, D. Baskaran // Grain Oil Sci. Technol. — 2019. — №2 (2). — p. 49–55.
 75. Bialon M. Chemical composition of two different lavender essential oils and their effect on facial skin microbiota / M. Bialon, T. Krzysko-Lupicka, E. Nowakowska-Bogdan, P.P. Wieczorek // Molecules. — 2019. №24. — p. 3270.
 76. Bilbao-Sainz C. Biopolymer films to control fusarium dry rot and their application to preserve potato tubers / C. Bilbao-Sainz, B.S. Chiou, D. Valenzuela-Medina, S.H. Imam, A. Vega-Gálvez, W.J. Orts // Journal of Applied Polymer Science. — 2016. — Vol. 133. — p. 40.
 77. Borca I.D., Carmen E.P. Studies Regarding the Morphological Identification of *Fusarium sambucinum* Fuckel Isolated from Potato Tubers / I.D. Borca, E.P. Carmen // Pro Environment. — 2013. — №6. — p. 59 - 63.

78. Bourn W.F. Assessing potato tubers for susceptibility to bacterial soft rot (*Erwinia carotovora* var. *atroseptica*) / W.F. Bourn, D.C. McCalmont, R.L. Wastie // *Potato Research*. — 1981. — №24. — p. 409-415.
79. Boyd A.E.W. Potato storage diseases / A.E.W. Boyd // *Rev. Plant Pathol.* — 1972. — №51. — p. 297-321.
80. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // *Anal Biochem.* — 1976. — №72. — p. 248-254.
81. Bradshaw J.E., Ramsay G. Utilisation of the Commonwealth potato collection in potato breeding / J.E. Bradshaw, G. Ramsay // *Euphytica*. — 2005. — №146. — p. 9-19.
82. Braga S.D.P. Application of coatings formed by chitosan and *Mentha* essential oils to control anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. brevisporum* in papaya (*Carica papaya* L.) fruit / S.D.P. Braga, G.A. Lundgren, S.A. Macedo, J.F. Tavares, W.A. Dos Santos Vieira, M.P. Saraiva Camara, E.L. de Souza // *International Journal of Biological Macromolecules*. — 2019. — №139. — p. 631-639.
83. Brasil I. Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya / I. Brasil, C. Gomes, A. Puerta-Gomez, M. Castell-Perez, R. Moreira // *LWT-Food Science and Technology*. — 2012. — Vol. 47(1). — pp. 3945.
84. Buendia-Moreno L. Innovative cardboard active packaging with a coating including encapsulated essential oils to extend cherry tomato shelf life / L. Buendia-Moreno, S. Soto-Jover, M. Ros-Chumillas, V. Antolinos, L. Navarro-Segura, M. Jose Sanchez-Martinez, G. Benito Martinez-Hernandez, A. Lopez-Gomez // *Lwt-Food Science and Technology*. — 2019. — №116 (108584).
85. Bugnicourt, L., & Ladavière, C. Interests of chitosan nanoparticles ionically cross-linked with tripolyphosphate for biomedical applications. / L. Bugnicourt, C. Ladavière // *Progress in polymer science*. 2016- V. 60- p. 1-17.

86. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review / S. Burt // International Journal of Food Microbiology. — 2004. — №94 (3). — p 223-253.
87. Burton W.G. The Potato: A survey of its history and of factors influencing its, nutritive value, quality and storage. 2nd Edition / W.G. Burton. — H. Wageningen: Veeman and Zonen N.V., 1966.
88. Calo J.R. Essential oils as antimicrobials in food systems—A review / J.R. Calo, P.G. Crandall, C.A. O'Bryan // Food control. — 2015. — Vol. 54. — p. 111-119.
89. Campos H. The potato crop: its agricultural, nutritional and social contribution to humankind / H. Campos, O. Ortiz // Springer Nature. — 2020. — p. 518.
90. Caprari C., Fantasma F., Divino F., Bucci A., Iorizzi M., Naclerio G., ... & Saviano G. Chemical Profile, In Vitro Biological Activity and Comparison of Essential Oils from Fresh and Dried Flowers of *Lavandula angustifolia* L. / C. Caprari et al. // Molecules. — 2021. — №26 (17). — p. 5317.
91. Carson C. Antimicrobial activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* / C. Carson, T.V. Ri-ley // Lett. Appl. Microbiol. — 1993. — №16. — p. 49–55.
92. Carson C. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: A review of antimicrobial and other medicinal prop-erties / C. Carson, K.A. Hammer, T.V. Riley // Clin. Microbiol. Rev. — 2006. — №19. — p. 50–62.
93. Choiseul J. Fungi causing dry tuber rots of seed potatoes in storage in Scotland / J. Choiseul, L. Allen, S.F. Carnegie // Potato Research. — 2006. — №49(4). — p. 241-253.
94. Cowan M.M. Plant Products as Antimicrobial Agents / M.M. Cowan // Clinical Microbiology Re-views. — 1999. — Vol. 12(4). — pp. 564_582.
95. Da Porto C. Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Com-parison of three different extraction methods / C. Da Porto, D. Decorti, I. Kikic // Food Chem. — 2009. — №112. — p. 1072–1078.

96. Daferera, D.J., Ziogas, B.N., Polissiou, M.G., 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Prot.* 22, 39–44.
97. Dalio R.J. Tea tree oil induces systemic resistance against *Fusarium* wilt in banana and *Xanthomonas* infection in tomato plants / R.J. Dalio, H.J. Maximo, R. Roma-Almeida, J.N. Barretta, E.M. José, A.J. Vitti, S.F. Pascholati // *Plants*. — 2020. — №9 (9 — p. 1137.
98. Danh L.T. Comparison of chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of lavender (*Lavandula angustifolia* L.) Essential Oils Extracted by Supercritical CO₂, hexane and hydrodistillation / L.T. Danh, L.N. Han, N.D.A. Triet, J. Zhao, R. Mammuccari, N. Foster // *Food Bioproc. Technol.* — 2013. — №. — p. 3481–3489.
99. Dantas Guerra I.C. Coatings comprising chitosan and *Mentha piperita* L. or *Mentha x villosa* Huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato fruit / I.C. Dantas Guerra, P.D. Lima De Oliveira, A.L. de Souza Pontes, A.S. Suassuna Carneiro Lucio, J.F. Tavares, J.M. Barbosa-Filho, M.S. Madruga, E.L. de Souza // *International Journal of Food Microbiology*. — 2015. — Vol. 214. — pp. 168-178.
100. De Farias S.S. Microencapsulation of riboflavin with galactomannan biopolymer and F127: Physico-chemical characterization, antifungal activity and controlled release / S.S. De Farias, S.M. Costa Siqueira, A.L. Cunha, C.A. Gomes De Souza, R.O. Dos Santos Fontenelle, T.G. de Araujo, A.F. Valentim De Amorim, J.E.S. Alencar De Menezes, S.M. de Moraes, N.M.P. Silva Ricardo // *Industrial Crops and Products*. — 2018. — Vol. 118. — pp. 271-281.
101. Dudoit A. et al. Antifungal activity of Brazilian red propolis extract and isolation of bioactive fractions by thin-layer chromatography-bioautography // *Food Chem. Elsevier*, 2020. Vol. 327. P. 127060.
102. Deka C., Deka D., Bora M.M., Jha D.K., Kakati D.K. Synthesis of peppermint oil-loaded chitosan/alginate polyelectrolyte complexes and study of their anti-

- bacterial activity / C. Deka et al. // Journal of Drug Delivery Science and Technology. — 2016. — №35. — p. 314-322.
- 103.** Devlieghere F. New preservation technologies: Possibilities and limitations / F. Devlieghere, L. Vermeiren, J. Debevere // International Dairy Journal. — 2004. — Vol. 14(4). — p. 273-285.
- 104.** Donato R. Antibacterial activity of Tuscan *Artemisia annua* essential oil and its major components against some foodborne pathogens / R. Donato, F. Santomauro, A.R. Bilia, G. Flamini, C. Sacco // Lwt-Food Science and Technology. — 2015. — Vol. 64(2). — p. 1251–1254.
- 105.** Donsì F. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods / F. Donsì, M. Annunziata, M. Sessa, G. Ferrari // LWT: Food Science and Technology. — 2011. — №44. — p. 1908–1914.
- 106.** Douglas K.L. Effect of experimental parameters on the formation of alginate–chitosan nanoparticles and evaluation of their potential application as DNA carrier / K.L. Douglas, M. Tabrizian // Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition. — 2005. — Vol. 16(1). — pp. 43–56.
- 107.** Dupuy N. itative analysis of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil using multiblock data from infrared spectroscopy / N. Dupuy, V. Gaydou, J. Kister // AJAC. — 2014. — №05. — p. 633–645.
- 108.** Eken C. Pathogenicity of the fungi determined on tubers from potato storages in Erzurum, Turkey / C. Eken, E. Demirci, F. Sahin // Journal of Turkish Phytopathology. — 2000. — Vol. 29. — p. 61–69.
- 109.** Elias S.N.K. Persistent symptomless, systemic and seed-borne infection of lettuce by *Botrytis cinerea* / S.N.K. Elias, M.W. Shaw, F.M. Dewey // European Journal of Plant Pathology. — 2010. — Vol. 126(1). — p. 61-71.
- 110.** El-Mohamedy R.S. Antifungal activity of *Moringa oleifera* oil and seed extract against some plant pathogenic fungi / R.S. El-Mohamedy, A.M. Abdallah // Middle East Journal of Agriculture Research. — 2014. — №3(2). — p. 242-249.

111. Elsadr H. Efficacy of natural compounds to suppress sprouting and fusarium dry rot in potatoes / H. Elsadr, D. Waterer // Department of Plant Sciences University of Saskatchewan. — 2005. — №51.
112. Elsherbiny E.A. Chemical composition and fungicidal effects of *Ocimum basilicum* essential oil on *Bipolaris* and *Cochliobolus* species / E.A. Elsherbiny, A.Y. El-Khateeb, N.A. Azzaz // J. Agr. Sci. Tech. — 2016. — №18. — p. 1143–1152.
113. Elsherbiny E.A. Control of dry rot and resistance induction in potato tubers against *Fusarium sambucinum* using red onion peel extract / E.A. Elsherbiny, D.H. Dawood, M.F. Elsebai, A. Mira, M.A. Taher // Postharvest Biology and Technology. — 2023. — №195. — p. 112119.
114. Esmaeili A. In vitro release and biological activities of *Carum copticum* essential oil (CEO) loaded chitosan nanoparticles / A. Esmaeili, A. Asgari // Int. J. Biol. Macromol. — 2015. — №81. — p. 283–290.
115. Esser-Kahn A.P. Triggered release from polymer capsules / A.P. Esser-Kahn, S.A. Odom, N.R. Soderstrom, S.R. White, J.S. Moore // Macromolecules. — 2011. — Vol. 44(14). — pp. 5539-5553.
116. Estrada Jr R. *Fusarium graminearum* as a dry rot pathogen of potato in the USA: prevalence, comparison of host isolate aggressiveness and factors affecting aetiology / R. Estrada Jr, N.C. Gud-mestad, V.V. Rivera, G.A. Secor // Plant Pathology. — 2010. — №59(6). — p. 1114-1120.
117. Etemadipoor R. The potential of gum arabic enriched with cinnamon essential oil for improving the qualitative characteristics and storability of guava (*Psidium guajava* L.) fruit / R. Etemadipoor, A. Ramezani, A.M. Dastjerdi, M. Shamili // Scientia Horticulturae. — 2019. — №251. — p. 101-107.
118. Ezhilarasi P.N. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review / P.N. Ezhilarasi, P. Karthik, N. Chhanwal, C. Anandharamakrishnan // Food and Bioprocess Technology. — 2013. — Vol. 6(3). — pp. 628-647.

119. Faïd M. Chemical composition and antimicrobial activities of two aromatic plants: *Origanum majorana* L. and *O. compactum* Benth / M. Faïd, M. Charai, M. Mosaddak // J. Essent. Oil Res. — 1996. — Vol. 8. — p. 957–964.
120. Fang Z. Encapsulation of polyphenols—a review / Z. Fang, B. Bhandari // Trends in Food Science and Technology. — 2010. — Vol. 21(10). — pp. 510–523.
121. Fathi M. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems / M. Fathi, M.R. Mozafari, M. Mohebbi // Trends in Food Science & Technology. — 2012. — Vol. 23(1). — pp. 13–27.
122. Fehr M. Alternariol acts as an affecting topoisomerase poison, preferentially the II α isoform / M. Fehr, G. Pahlke, J. Fritz, et al. // Mol. Nutr. Food Res. — 2009. — №53. — p. 441–451.
123. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap / J. Felsenstein // Evolution. — 1985. — №39:783–791.
124. Feng W. Essential oils to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo / W. Feng, X. Zheng // Food Control. — 2007. — Vol. 18. — p. 1126–1130.
125. Fuciños C. Temperature-and pH sensitive nanohydrogels of poly (N-isopropylacrylamide) for food packaging applications: Modelling the swelling-collapse behavior / C. Fuciños, P. Fuciños, M. Míguez // PLOS ONE. — 2014. — Vol. 9(2). — e87190.
126. Gachango E. Effects of in-season crop-protection combined with postharvest applied fungicide on suppression of potato storage diseases caused by oomycete pathogens / E. Gachango, W. Kirk, R. Schafer // Crop Prot. — 2012a. — Vol. 41. — pp. 42–48.
127. Gachango E. First report of in vitro fludioxonil-resistant isolates of *Fusarium* spp. causing potato dry rot in Michigan / E. Gachango, W. Kirk, L. Hanson, et al. // Plant Disease. — 2011. — №95(2). — p. 228–228.
128. Gachango E. *Fusarium* spp. causing dry rot of seed potato tubers in Michigan and their sensitivity to fungicides / E. Gachango, L.E. Hanson, A. Rojas, J.J. Hao, W.W. Kirk // Plant Dis. — 2012b. — Vol 96. — pp. 1767–1774.

129. Gago C. The effect of nanocoatings enriched with essential oils on 'rocha'pear long storage / C. Gago, R. Antão, C. Dores, A. Guerreiro, M.G. Miguel, M.L. Faleiro, M.D. Antunes // *Foods*. — 2020. — №9(2). — p. 240.
130. Galeazzi M.A.M. Isolation, purification and physicochemical characterization of polyphenoloxidases (PPO) from a dwarf variety of banana (*Musa cavendishii*, L) / M.A.M. Galeazzi, V.C. Sgarbieri, S.M. Constantinides // *Journal of Food Science*. — 1981. — №46. — p. 150–155.
131. Gams B.W., Booth C. *Fusarium, Laboratory Guide to the Identification of the Major Species* / B.W. Gams, C. Booth // *Mycologia*. — 1977. — №69 (6). — p. 1239.
132. Gan Q. Modulation of surface charge, particle size and morphological properties of chitosan–TPP nanoparticles intended for gene delivery / Q. Gan, T. Wang, C. Cochrane, P. McCarron // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. — 2005. — Vol. 44(2). — pp. 65–73.
133. Gandomi H. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and aflatoxin formation by *Aspergillus flavus* in culture media and cheese / H. Gandomi, A. Misaghi, A.A. Basti, S. Bokaei, A. Khosravi, A. Abbasifar, A.J. Javan // *Food and Chemical Toxicology*. — 2009. — Vol. 47(10). — p. 2397–2400.
134. Gannibal P.B. Differentiation of the closely related species, *Alternaria solani* and *A. tomatophila*, by molecular and morphological features and aggressiveness / P.B. Gannibal, A.S. Orina, N.V. Mironenko, M.M. Levitin // *Eur J Plant Pathol*. — 2014. — №139. — p. 609–623.
135. Gao L.L. Etiology of moldy core, core browning, and core rot of fuji apple in China / L.L. Gao, Q. Zhang, X.Y. Sun, et al. // *Plant Dis*. — 2013. — №97. — p. 510–516.
136. Gerlach W., Nirenberg H. *The Genus Fusarium: A Pictorial Atlas* / W. Gerlach, H. Nirenberg. — Berlin-Dahlem, 1982.
137. Gharib H.A., Mandour A.M. Effect of *Populus nigra* spring and autumn leaves extract on *Cap-sicum annuum* infected with pepper mild mottle virus / H.A. Gharib, A.M. Mandour // *Scientific Reports*. — 2022. — №12 (1). — p. 22194.

138. Gnanamanickam, S.S. Biological Control of Rice Diseases, Progress in Biological Control 8 / S.S. Gnanamanickam // Springer Science and Business Media: Dordrecht, The Netherlands – 2009.
139. González L.A. The postharvest use of synthetic fungicides, implications on human health / L.A. González, Q.A.I. Valenzuela // Recent Advances in Alternative Postharvest Technologies to Control Fungal Diseases in Fruits & Vegetables. — 2007. — p. 1–20.
140. Gorris, L.G.M., Oosterhaven, K., Hartmans, K.J., De Witte, Y., Smid, E.J., 1994. Control of fungal storage diseases of potato by use of plant-essential oil components. In: Brighton Crop Protection Conference, Pests and Diseases. British Crop Protection Council, Farnham, UK, pp. 307–312.
141. Goy R.C. A review of the antimicrobial activity of chitosan / R.C. Goy, Dd BriЧД, O.B. Assis // Poli´meros. — 2009. — Vol. 19(3). — p. 241-247.
142. GPT-4
143. Gu Z.H. Development of a semi-nested PCR-based method for specific and rapid detection of *Alternaria solani* causing potato early blight in soil / Z.H. Gu, D.M. Yang, D. Zhao, D. Zhang, Q. Wang, L.S. Ma, J.H. Zhu // Curr. Microbiol. — 2017. — Vol. 74. — p. 1083–1088.
144. Gul O. Effect of ultrasound treatment on the properties of nano-emulsion films obtained from hazelnut meal protein and clove essential oil / O. Gul, F.T. Sari-caoglu, A. Besir, I. Atalar, F. Yazici // Ultrason. Sonochem. — 2018. — Vol. 41. — p. 466–474.
145. Guo R. Synthesis of alginic acid–poly [2– (diethylamino) ethyl methacrylate] monodispersed nanoparticles by a polymer–monomer pair reaction system / R. Guo, L. Zhang, Z. Jiang, Y. Cao, Y. Ding, X. Jiang // Biomacromolecules. — 2007. — Vol. 8(3). — pp. 843–850.
146. Hadizadeh, I., et al. Antifungal activity of essential oils from some medicinal plants of Iran against *Alternaria alternata*. / I. Hadizadeh, B. Pivastegan, H. Hamzehzarghani // Am. J. Appl. Sci. 6, 857–861.

147. Hall T. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment, and analysis program for Win-dows 95/98/NT / T. Hall // Nucleic Acids Series. — 1999. — №41: 95-98.
148. Hammerschmidt R. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic re-sistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium* / R. Hammerschmidt, E.M. Nuckles, J. Kuc // *Physiol. Plant Pathol.* — 1982. — №20. — p. 73–82.
149. Han F. Microbial Transformation of Galangin Derivatives and Cytotoxicity Evaluation of Their Metabolites / F. Han, Y. Xiao, I.-S. Lee // *Catalysts*. — 2021. — Vol.11. — 1020.
150. Hans M.L. Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting / M.L. Hans, A.M. Lowman // *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. — 2002. — Vol. 6(4). — pp. 319–327.
151. Harris R. Chitosan nanoparticles and microspheres for the encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis* / R. Harris, E. Lecumberri, I. Mateos-Aparicio, M. Mengibar, A. Heras // *Carbohydrate Polymers*. — 2011. — №84. — p. 803–806.
152. Harteveld D.O.C. Multiple *Alternaria* species groups are associated with leaf blotch and fruit spot diseases of apple in Australia / D.O.C. Harteveld, O.A. Akinsanmi, A. Drenth // *Plant Pathol.* — 2013. — №62. — p. 289-297.
153. Hasheminejad N. The effect of clove essential oil loaded chitosan nanoparticles on the shelf life and quality of pomegranate arils / N. Hasheminejad, F. Khodaiyan // *Food Chemistry*. — 2020. — №309.
154. Hidalgo P.J. Essential oils in *Calamintha sylvatica* Bromf. ssp. *ascendens* (Jordan) P.W. Ball: Wild and cultivated productions and antifungal activity / P.J. Hidalgo, J.A. Ubera, F. Santos, et al. // *J. Essent. Oil Res.* — 2002. — p. 68–71.
155. Hooker W.J. Compendium of Potato Diseases / W.J. Hooker // *American Phytopathological Society*. — 1983.
156. Hosseini S.F. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparti-cles: preparation, characterization and in vitro release study /

- S.F. Hosseini, M. Zandi, M. Rezaei, F. Farahmandghavi // *Carbohydr. Polym.* — 2013. — №95 (1). — p. 50–56.
- 157.** Hosseinnejad M. Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan / M. Hosseinnejad, S.M. Jafari // *International Journal of Biological Macromolecules.* — 2016. — Vol. 85. — p. 467-475.
- 158.** Huang W. Layer-by-layer immobilization of lysozyme/chitosan/inorganic rectorite composites on electrospun nanofibrous mats for pork preservation / W. Huang, H. Xu, Y. Xue, R. Huang, H. Deng, S. Pan // *Food Research International.* — 2012. — Vol. 48(2). — pp. 784-791.
- 159.** Iftikhar S. Discovering novel *Alternaria solani* succinate dehydrogenase inhibitors by in silico modeling and virtual screening strategies to combat early blight / S. Iftikhar, A.A. Shahid, S.A. Halim, P.J. Wolters, V.G.A.A. Vleeshouwers, A. Khan, A. AlHarrasi, S. Ahmad // *Front. Chem.* — 2017. — Vol. 5. — p. 100.
- 160.** Ippolito A. Control of postharvest decay of apple fruit by *Aureobasidium pullulans* and induction of defense responses / A. Ippolito, A. El Ghaouth, C.L. Wilson, M. Wisniewski // *Postharvest Biology and Technology.* — 2000. — №19. — p. 265–272.
- 161.** Jafari S.M. Nanoencapsulation of food bioactive ingredients: principles and applications / S.M. Jafari (Ed.). — Academic Press, 2017.
- 162.** Jafarinejad S. Development of chitosan-based nanoparticles for pulmonary delivery of itraconazole as dry powder formulation / S. Jafarinejad, K. Gilani, E. Moazeni, M. Ghazi-Khansari, A.R. Najafabadi, N. Mohajel // *Powder Technology.* — 2012. — Vol. 222. — pp. 65–70.
- 163.** Jamil B. Encapsulation of cardamom essential oil in chitosan nano-composites: In-vitro efficacy on antibiotic-resistant bacterial pathogens and cytotoxicity studies / B. Jamil, R. Abbasi, S. Abbasi, M. Imran, S.U. Khan, A. Ihsan, M. Imran // *Frontiers in microbiology.* — 2016. — Vol. 7. — p. 1580.
- 164.** Jang K.I. / K.I. Jang, H.G. Lee // *J. Agric. Food Chem.* — 2008. — №56. — p. 1936–1941.

165. Jayasena D.D. Potential Application of Essential Oils as Natural Antioxidants in Meat and Meat Products: A Review / D.D. Jayasena, C. Jo // Food Reviews International. — 2014. — Vol. 30(1). — p. 71-90.
166. Jongsri P. Effect of molecular weights of chitosan coating on postharvest quality and physico-chemical characteristics of mango fruit / P. Jongsri, T. Wangsomboondee, P. Rojsitthisak, K. Ser-aypheap // LWT—Food Science and Technology. — 2016. — Vol. 73. — p. 28-36.
167. Kapetanakou A.E. Sodium alginate-cinnamon essential oil coated apples and pears: Variability of *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production / A.E. Kapetanakou, S. Nestora, V. Evageliou, P.N. Skandamis // Food Research International. — 2019. — №119. — p. 867-885.
168. Kas H.S. Chitosan: Properties, preparations and application to microparticulate systems / H.S. Kas // Journal of Microapsulation. — 1997. — Vol. 14(6). — p. 689–711.
169. Keawchaoon L. Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chi-tosan nanoparticles / L. Keawchaoon, R. Yoksan // Colloids Surf. B: Biointerfaces. — 2011. — №84 (1). — p. 163–171.
170. Keawchaoon L. Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chi-tosan nanoparticles / L. Keawchaoon, R. Yoksan // Colloids and surfaces B: Biointerfaces. — 2011. — №84 (1). — p. 163-71.
171. Kemmitt, G. Early blight of potato and tomato / G. Kemmitt // The Plant Health Instructor, - 2002. - DOI: 10.1094/PHI-I-2002-0809-01
172. Kobiler I. Effect of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid on the incidence of side and stem end rots in mango fruits / I. Kobiler, Y. Shalom, I. Roth // Postharvest Biol. Technol. — 2001. — №23. — p 23-32.
173. Kong M. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review / M. Kong, X.G. Chen, K. Xing, H.J. Park // International Journal of Food Microbiology. — 2010. — Vol. 144 (1). — p. 51-63.

174. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // Molecular Biology and Evolution. — 2016. — №33. — p. 1870-1874.
175. Lan X. The Natural Flavonoid Pinocembrin: Molecular Targets and Potential Therapeutic Applications / X. Lan, W. Wang, Q. Li, J. // Molecular Neurobiology. — 2015. — Vol.53(3). — Pp. 1794–1801.
176. Landschoot S. Identification of *A. arborescens*, *A. grandis*, and *A. protenta* as new members of the European *Alternaria* population on potato / S. Landschoot, J. Carrette, M. Vandecasteele, et al. // Fungal Biol. — 2017a. — №121. — p. 172–188.
177. Langerfeld, E., 1986. Thiabendazole resistance of *Fusarium sulphureum*. Nachr. Dtsch. Pflanzenschutzd. 38, 165–168.
178. Lapwood D.H. Methods for assessing the susceptibility of potato tubers of different cultivars to rotting by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *carotovora* / D.H. Lapwood, P.J. Read, J. Spokes // Plant Pathol. — 1984. — №33. — p. 13-20.
179. Larget B. Markov chain Monte Carlo algorithms for the Bayesian analysis of phylogenetic trees / B. Larget, D. Simon // Mol Biol Evol. — 1999. — №16. — p. 750–759.
180. Latha P. Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and Zimmu leaf extract against *Alternaria solani* / P. Latha, T. Anand, N. Ragupathi, V. Prakasam, R. Samiyappan // Biol Control. — 2009. — Vol. 50. — pp. 85–93.
181. Layek R.K. A review on synthesis and properties of polymer functionalized graphene / R.K. Layek, A.K. Nandi // Polymer. — 2013. — Vol. 54(19). — pp. 5087–5103.
182. Lazar EE and Jobling JJ. Essential Oils: An Alternative for Postharvest Disease Management. In: Postharvest Technologies for Horticultural Crops // Vol. 2. Edited by Benkeblia N. Kerala, India: Research Signpost. – 2009. - 251–265

183. Lee S.J. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties / S.J. Lee, K. Umamo, T. Shibamoto, K.G. Lee // *Food Chemistry*. — 2005. — Vol. 91(1). — p. 131- 137.
184. Leiminger J.H. Untersuchungen zur Befallsentwicklung und Ertragswirkung der Dür-rfleckenkrankheit (*Alternaria* spp.) in Kartoffelsorten unterschiedlicher Reifegruppe / J.H. Leiminger, H. Hausladen // *Gesunde Pflanzen*. — 2014. — №66. — p. 29–36.
185. Leslie J.F., Summerell B.A. *The Fusarium Laboratory Manual* / J.F. Leslie, B.A. Summerell. — Blackwell Publishing, 2006.
186. Li, Y.-C., Sun, X.-J., Bi, Y., Ge, Y.-H., Wang, Y., 2009b. Antifungal activity of chitosan on *Fusarium sulphureum* in relation to dry rot of potato tuber. *Agr. Sci. China* 8, 597–604
187. Lima Oliveira P.D. Control of anthracnose caused by *Colletotrichum* species in guava, mango and papaya using synergistic combinations of chitosan and *Cymbopogon citratus* (DC ex Nees) Stapf. essential oil / P.D. Lima Oliveira, K.A. Rima De Oliveira, W.A. Dos Santos Vieira, M.P. Saraiva Camara, E.L. de Souz // *International Journal of Food Microbiology*. — 2018. — №266. — p. 87-94.
188. Lin A.H. Free amino groups on the surface of chitosan nanoparticles and its characteristics / A.H. Lin, Y.M. Liu, Q.N. Ping // *Acta Pharmaceutica Sinica*. — 2007. — Vol. 42(3). — p. 323–328.
189. Liu J. Chitosan induces resistance to tuber rot in stored potato caused by *Alternaria tenuissima* / J. Liu, X. Zhang, J.F. Kennedy, M. Jiang, Q. Cai, X. Wu // *International Journal of Biological Macromolecules*. — 2019. — Vol. 140. — p. 851-857.
190. Liu Y.J. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit / Y.J. Liu, S. Whelen, B.D. Hall // *Molecular Biology and Evolution*. — 1999. — №16. — p. 1799–1808.

191. Logan C. Comparative studies of *Phoma* spp. associated with potato gangrene in Northern Ireland / C. Logan, A. A. Khan // Transaction of the British Mycological Society. -1969. - V. 52. - P. 9-17
192. López M.L.I. Evaluation of the fungicidal activity of chitosan on *Alternaria alternata* and on the quality of Mango 'Tommy Atkins' during storage / M.L.I. López, M.P. Gutiérrez, B.S. Bautista, G.L.F. Jiménez, M.H.A. Zavaleta // Rev. Chapingo Serie Horticultura. — 2013.
193. Lu Y. Isolation and identification of endophytic fungi from *Actinidia macrocarpa* and investigation of their bioactivities / Y. Lu, C. Chen, H. Chen, J. Zhang, W. Chen // Evidence-Based Complement Altern Med. — 2012. — ID: 382742, 8.
194. Luo M. Compost bacteria provide antifungal activity against grey mold and *Alternaria* rot on bell pepper fruit / M. Luo, H. Purdy, T.J. Avis // Botany. — 2019. — №97(3). — p. 221-230. [Online] Available at: <https://doi.org/10.1139/cjb-2018-0180>.
195. Mahdavi S. Antifungal effects of essential oils of three medicinal plants on post-harvest rot of Valencia oranges at normal and storage temperatures / S. Mahdavi, A. Zakerin, H. Sadeghi // Afri. J. Microbiol. Res. — 2013. — Vol. 7. — p. 3831–3835.
196. Mahdavi S.A. Spray-drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers: a re-view / S.A. Mahdavi, S.M. Jafari, M. Ghorbani, E. Assadpoor // Drying Technology. — 2014. — Vol. 32(5). — pp. 509_518.
197. Mahmoud G.A. Utilisation of biocides for controlling pest attacks on potato tubers / G.A. Mahmoud, K.M.K. El-Tobgy, M.A. Abo-El-Seoud // Archives of Phytopathology and Plant Protection. — 2010. — №43(3). — p. 251-258.
198. Martín, Á., Varona, S., Navarrete, A., & Cocero, M.J. (2010). Encapsulation and coprecipitation processes with supercritical fluids: applications with essential oils. Open Chemical Engineering Journal, 4

199. Matny O.N., Al-Warshan S.H.S., Ali A.M. Antifungal Evaluation of Iraqi Propolis against *Penicillium expansum* and Mycotoxin Production in Apple // *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 2015. Vol. 4, № 11. P. 399–405.
200. Mattiuz B.H. et al. Effect of propolis on postharvest control of anthracnose and quality parameters of 'Kent' mango // *Sci. Hortic. (Amsterdam). Elsevier*, 2015. Vol. 184. P. 160–168.
201. Meng J.W. Humanmediated gene flow contributes to metapopulation genetic structure of the pathogenic fungus *Alternaria alternata* from potato / J.W. Meng, D.C. He, W. Zhu, L.N. Yang, E.J. Wu, J.H. Xie, L.P. Shang, J.S. Zhan // *Front. Plant Sci.* — 2018. — Vol. 9. — p. 198.
202. Meng X. Effects of chitosan and oligochitosan on growth of two fungal pathogens and physio-logical properties in pear fruit / X. Meng, L. Yang, J.F. Kennedy, S. Tian // *Carbohydr. Polymers.* — 2010. — Vol. 81. — pp. 70–75.
203. Mersha Z. A postharvest fruit disease – black mold rot caused by *Alternaria* sp on imported plum tomatoes in South Florida / Z. Mersha, S. Zhang, J.A. Bartz // *The Vegetarian Newsletter. Horticultural Sciences at University of Florida.* — 2012. — Issue No. 579.
204. Mmbaga M.T. Identification of *Alternaria alternata* as a causal agent for leaf blight in *Syringa* species / M.T. Mmbaga, A. Shi, M.S. Kim // *Plant Pathol. J.* — 2011. — №27. — p 120-127.
205. Modarres-Gheisari S.M.M. Ultrasonic nano-emulsification—A review / S.M.M. Modarres-Gheisari, R. Gavagsaz-Ghoachani, M. Malaki, P. Safarpour, M. Zandi // *ason. Sonochem.* — 2019. — Vol. 52. — p. 88–105.
206. Mohammadi A. Chitosan nanoparticles loaded with *Cinnamomum zeylanicum* essential oil enhance the shelf life of cucumber during cold storage / A. Mohammadi, M. Hashemi, S.M. Hosseini // *Postharvest Biol. Technol. Elsevier*, 2015.- Vol. 110.- P. 203–213.
207. Mora-Huertas C.E. Polymer-based nanocapsules for drug delivery / C.E. Mora-Huertas, H. Fes-si, A. Elaissari // *International Journal of Pharmaceutics.* — 2010. — Vol. 385(1). — pp. 113–142.

208. Mozafari, M.R., Flanagan, J., Matia-Merino, L., Awati, A., Omri, A., Suntres, Z.E., et al. (2006). Recent trends in the lipid-based nanoencapsulation of antioxidants and their role in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2038–2045
209. Munin A. Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review / A. Munin, F. Edwards-Le'vy // *Pharmaceutics*. — 2011. — Vol. 3(4). — pp. 793–829.
210. Muzzarelli R.A. Chitins and chitosans as immunoadjuvants and non-allergenic drug carriers / R.A. Muzzarelli // *Marine Drugs*. — 2010. — Vol. 8(2). — p. 292–312.
211. Nallamuthu A. Chlorogenic acid loaded chitosan nanoparticles with sustained release property, retained antioxidant activity and enhanced bioavailability / A. Nallamuthu, F. Devi, F. Khanum // *Asian J. Pharm. Sci.* — 2015. — №10 (3). — p. 203–211.
212. Nasti A. Chitosan/TPP and chitosan/TPP-hyaluronic acid nanoparticles: Systematic optimisation of the preparative process and preliminary biological evaluation / A. Nasti, N.M. Zaki, P. de Leonardis // *Pharmaceutical Research*. — 2009. — Vol. 26(8). — p. 1918–1930.
213. Navarro-Tarazaga M.L. Effect of beeswax content on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (Cv. Angeleno) / M.L. Navarro-Tarazaga, A. Massa, M.B. Pérez-Gago // *LWT-Food Science and Technology*. — 2011. — №44(10). — p. 2328–2334.
214. Nelson P.E., Toussoun T.A., Marsas W.F.U. *Fusarium species. An Illustrated Manual for Identification* / P.E. Nelson, T.A. Toussoun, W.F.U. Marsas. — The Pennsylvania State Univ. Press, 1983.
215. Nemsá I. Pathogenicity of *Alternaria alternata* on fruits and leaves of 'Fortune' mandarin (*Citrus clementina* × *Citrus tangerina*) / I. Nemsá, M.A. Hernández, A. Lacasa // *Can. J. Plant Pathol.* — 2012. — №34. — p. 195–202.
216. Nassima B., Nassima B., Riadh K. Antimicrobial and antibiofilm activities of phenolic compounds extracted from *Populus nigra* and *Populus alba* buds (Alge-

- ria) // Brazilian J. Pharm. Sci. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2019. Vol. 55. P. e18114.
- 217.** Nolte P. Comparative effects of cut and treated seed tubers vs untreated whole seed tubers on seed decay, Rhizoctonia stem canker, growth, and yield of Russet Burbank potatoes / P. Nolte, M. Bertram, M. Bateman, C.S. McIntosh // American journal of potato research. — 2003. — №80(1). — p. 1-8.
- 218.** Nnodu E.C. The effect of storage environment on the infection of potato tubers by *Alternaria solani* / E.C. Nnodu, M.D. Harrison, M. Workman // American Potato Journal. — 198. - №259.- p. 313–325.
- 219.** Oadi N. Matny. Efficacy Evaluation of Iraqi Propolis Against Gray Mold of Stored Orange Caused by *Penicillium digitatum* // Plant Pathol. J. 2015. Vol. 14, № 3. P. 153–157.
- 220.** Ocamb C.M. Benzimidazole resistance of fusarium species recovered from potatoes with dry rot from storages located in the Columbia basin of Oregon and Washington / C.M. Ocamb, P.B. Hamm, D.A. Johnson // American Journal of Potato Research. — 2007. — №84(2). — p. 169-177.
- 221.** Ohya Y. Release behavior of 5-fluorouracil from chitosan gel nanospheres immobilizing 5-fluorouracil coated with polysaccharides and their cell specific cytotoxicity / Y. Ohya, M. Shira-tani, H. Kobayashi, T. Ouchi // Journal of Macromolecular Science—Pure and Applied Chemistry. — 1994. — Vol. 31(5). — pp. 629–642.
- 222.** Ojaghian M.R. Antifungal and enzymatic evaluation of plant crude extracts derived from cin-namon and rosemary against *Sclerotinia* carrot rot / M.R. Ojaghian, Y. Chen, S. Chen, Z.Q. Cui, G.L. Xie, J. Zhang // Annals of applied biology. — 2014. — №164 (3). — p. 415-429.
- 223.** Ozogul Y. Antimicrobial activity of thyme essential oil nanoemulsions on spoilage bacteria of fish and food-borne pathogens / Y. Ozogul, E.K. Boga, I. Akyol, M. Durmus, Y. Ucar, J.M. Re-genstein, A.R. Kosker // Food Bioscience. — 2020. — №36(100635).

224. Palma-Guerrero J. Membrane fluidity determines sensitivity of filamentous fungi to chitosan / J. Palma-Guerrero, J. Lopez-Jimenez, A. Pérez-Berna, et al. // *Mol. Microbiol.* — 2010. — Vol. 75. — pp. 1021–1032.
225. Pathania R. Essential oil nanoemulsions and their antimicrobial and food applications / R. Pathania, H. Khan, R. Kaushik, M.A. Khan // *Curr. Res. Nutr. Food Sci. J.* — 2018. — №6 (3). — p. 626–643.
226. Paul J.S., Tiwari K.L., Jadhav S.K. Long term preservation of commercial important fungi in glycerol at 4 C / J.S. Paul, K.L. Tiwari, S.K. Jadhav // *Int J Biol Chem.* — 2015. — №9 (2). — p. 79-85.
227. Pavlukhina S. Polymer multilayers with pH-triggered release of antibacterial agents / S. Pavlu-khina, Y. Lu, A. Patimetha, M. Libera, S. Sukhishvili // *Biomacromolecules.* — 2010. — Vol. 11(12). — pp. 34483456.
228. Pedros-Garrido S. Antimicrobial activity of natural compounds against listeria spp. and their effects on sensory attributes in salmon (*Salmo salar*) and cod (*Gadus morhua*) / S. Pedros-Garrido, I. Clemente, J. B. Calanche, S. Condon-Abanto, J. A. Beltran, J. G. Lyng, N. Brunton, D. Bolton, P. Whyte // *Food Control.* — 2020. — №107 (UNSP 106768).
229. Peralta-Ruiz Y. *Colletotrichum gloesporioides* inhibition using chitosan-Ruta graveolens L es-essential oil coatings: Studies in vitro and in situ on Carica papaya fruit / Y. Peralta-Ruiz, C. Grande Tovar, A. Sinning-Mangonez, D. Bermont, A. Perez Cordero, A. Paparella, C. Chaves-Lopez // *International Journal of Food Microbiology.* — 2020. — №326(108649).
230. Peters J.C. Characterization of *Fusarium* spp. responsible for causing dry rot of potato in Great Britain / J.C. Peters, A.K. Lees, D.W. Cullen // *Plant Pathol.* — 2008a. — Vol. 57. — P. 262–271.
231. Peters R.D. First report of fludioxonil-resistant isolates of *Fusarium* spp. causing potato seed-piece decay / R.D. Peters, H.W. Platt, K.A. Drake, et al. // *Plant disease.* — 2008. — №92(1). — p. 172-172.
232. Phillips C.A. The use of Citri-V™® – An antimicrobial citrus essential oil vapour for the control of *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* and *Al-*

- ter-naria alternata* in vitro and on food / C.A. Phillips, K. Laird, S.C. Allen // Food Res. Int. — 2012. — p. 310–314.
- 233.** Platt H.W. Foliar application of fungicides affects occurrence of potato tuber rots caused by four foliar pathogens / H.W. Platt // Can. J. Plant Pathol. — 1994. — Vol. 16. — p. 341–346.
- 234.** Rao J.P. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters / J.P. Rao, K.E. Geckeler // Progress in Polymer Science. — 2011. — Vol. 36(7). — pp. 887–913.
- 235.** Rashied D.I.S. Studies on Fungal Post Harvest Diseases of Potatoes Prepared for Exportation and Processing / D.I.S. Rashied // Ph.D. Thesis, Fac. Agric., AL-Azhar Univ. — 2008. — 244 pp.
- 236.** Raspo M.A. Antioxidant and antimicrobial activities of citrus essential oils from Argentina and the United States / M.A. Raspo, M.B. Vignola, A.E. Andreatta, H.R. Juliani // Food Bioscience. — 2020. — №36(100651).
- 237.** Reddy B.M.V. Chitosan effect on black mold rot and pathogenic factors produced by *Alter-naria alternata* in postharvest tomatoes / B.M.V. Reddy, P. Angers, F. Castaigne, J. Arul // J. Am. Soc. Horticultural Sci. — 2000. — №125. — p 742-747.
- 238.** Reddy M.V. Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* / M.V. Reddy, J. Arul, E. Ait-Barka, P. Angers, C. Richard, F. Castaigne // Biocontrol Sci. Technol. — 1998. — №8. — p 33-43.
- 239.** Reis C.P. Nanoencapsulation: I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparti-cles / C.P. Reis, R.J. Neufeld, A.J. Ribeiro, F. Veiga // Nano-medicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. — 2006. — Vol. 2(1). — pp. 8–21.
- 240.** Reuveni M. BM-608—A novel organic product based on essential tea tree for the control of fungal diseases in tomato / M. Reuveni, D. Neifeld, D. Dayan, Y. Kotzer // Acta Hortic. — 2009. — №808. — p. 129–132.
- 241.** Reuveni M. Essential tea tree oil as a tool to combat blackatoka in banana / M. Reuveni, M. Barbier, A.J. Viti // Outlooks Pest Manag. — 2020.

242. Rodrigues TTMS. First report of *Alternaria tomatophila* and *A. grandis* causing early blight on tomato and potato in Brazil / TTMS Rodrigues, ML Berbee, EG Simmons, et al. // *New Dis Rep.* — 2010. — №22. — p. 28–28.
243. Romanazzi G. Recent advances on the use of natural and safe alternatives to conventional methods to control postharvest gray mold of table grapes / G. Romanazzi, A. Lichter, F. Mlikota Gabler // *Postharvest Biol. Technol.* — 2012. — Vol. 63. — p. 141–147.
244. Ronquist F., Huelsenbeck J.P. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models / F. Ronquist, J.P. Huelsenbeck // *Bioinformatics.* — 2003. — №19. — p. 1572–1574.
245. Rotem J. The genus of *Alternaria*: Biology, Epidemiology and Pathogenicity / J. Rotem // *The American Phytopathological Society.* — 1998.
246. Russo M. Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Ori-ganum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A preliminary evaluation of their use in chemotaxon-omy by cluster analysis. 1. Inflorescences / M. Russo, G.C. Galletti, P. Bocchini, A. Carnacini // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* — 1998. — Vol. 46(9). — p. 3741-3746.
247. Sánchez-Domínguez D. Cytological and biochemical changes induce by chitosan in the pa-thosystem *Alternaria alternata*-tomato / D. Sánchez-Domínguez, M.Y. Ríos, P. Castillo-Ocampo, G. Zavala-Padilla, M. Ramos-García, S. Bautista-Baños // *Pesticide Biochem. Physiol.* — 2011. — №99. — p 250-255.
248. Sánchez-Domínguez D. Cytological and biochemical changes induce by chitosan in the pa-thosystem *Alternaria alternata*-tomato / D. Sánchez-Domínguez, M.Y. Ríos, P. Castillo-Ocampo, G. Zavala-Padilla, M. Ramos-García, S. Bautista-Baños // *Pesticide Biochem. Physiol.* — 2011. — Vol. 99. — pp. 250–255.
249. Sánchez-Domínguez D. Efecto del quitosano en el desarrollo y morfología de *Alternaria alterna-ta*(Fr.:Fr.) Keissl / D. Sánchez-Domínguez, S. Bautista-Baños, P. Castillo-Ocampo // *Anales de Bi-ología.* — 2007. — №29. — p 23-32.

250. Sánchez-Domínguez D. Efecto del quitosano en el desarrollo y morfología de *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl / D. Sánchez-Domínguez, S. Bautista-Baños, P. Castillo-Ocampo // *Anales de Biología*. — 2007. — Vol. 29. — pp. 23–32.
251. Sanchez-Gonzalez L. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes / L. Sanchez-Gonzalez, C. Pastor, M. Vargas, A. Chiralt, C. Gonzalez-Martinez, M. Chafer // *Postharvest Biology and Technology*. — 2011. — №60(1). — p. 57-63.
252. Sangsuwan J. Effect of chitosan and alginate beads incorporated with lavender, clove essential oils, and vanillin against *Botrytis cinerea* and their application in fresh table grapes packaging system / J. Sangsuwan, S. Sutthasupa // *Packaging Technology and Science*. — 2019. — №32 (12). — p 595-605.
253. Sanyaolu A.A.A. Postharvest fungal deterioration of Tomato (*Lycopersicon esculentum* MILL) and Pepper (*Capsicum annum* L): The “ESA” connection / A.A.A. Sanyaolu // *Science World Journal*. — 2016. — Vol. 11(3). — p. 1-10.
254. Sapper M. Antifungal Starch-Gellan Edible Coatings with Thyme Essential Oil for the Postharvest Preservation of Apple and Persimmon / M. Sapper, L. Palou, M.B. Perez-Gago, A. Chiralt // *Coatings*. — 2019. — №9(3335).
255. Scott P. M. Analysis of agricultural commodities and foods for *Alternaria* mycotoxins / P. M. Scott // *Journal of AOAC International*. — 2001. — №84 (6). — p 1809-1817.
256. Secor G.A. Fusarium dry rot and Fusarium wilt / G.A. Secor, B. Salas // *Compendium of Potato Diseases*. — 2001. — pp. 23e25.
257. Şenel S. Potential applications of chitosan in veterinary medicine / S. Şenel, S.J. McClure // *Advanced Drug Delivery Reviews*. — 2004. — Vol. 56(10). — p. 1467–1480.
258. Shao X. Effects and possible mechanisms of tea tree oil vapor treatment on the main disease in postharvest strawberry fruit / X. Shao, H. Wang, F. Xu, S. Cheng // *Postharvest Biol. Technol.* — 2013 b. — №77. — p. 94–101.

259. Shao X. The possible mechanism of antifungal action of tea tree oil on *Botrytis cinerea* / X. Shao, S. Cheng, H. Wang, D. Yu, C. Mungai // *J. Appl. Microbiol.* — 2013. — №114. — p. 1642–1649.
260. Shetta A. Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chi-tosan nanoparticles Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities / A. Shetta, J. Kegere, W. Mamdouh // *International Journal of Biological Macromolecules*. — 2019. — №126. — p. 731-742.
261. Shtienberg D. Effects of host physiology on the development of core rot, caused by *Alternaria alternata*, in red delicious apples / D. Shtienberg // *Phytopathology*. — 2012. — №102. — p 769-778.
262. Silva J.A. Efeito de extratos vegetais no controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* em sementes de caupi / J.A. Silva, C.M.A. Pegado, V.V. Ribeiro, N.M. Brito, L.C. Nascimento // *Ciênc Agrotec.* — 2009. — Vol. 33. — pp. 611–6.
263. Silva S.R.S. Análise dos constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheell / S.R.S. Silva, A.J. Demuner, L.C.A. Barbosa, N.J. Andrade, E.A. Nascimento, A.L. Pinheiro // *Rev. Bras. Plantas Med.* — 2003. — Vol. 6. — pp. 63–70.
264. Simmons E.G. *Alternaria* themes and variations (236-243) / E.G. Simmons // *Mycotaxon*. — 1999. — №70. — p 325-369.
265. Simmons E.G. *Alternaria* themes and variations / E.G. Simmons, R.G. Roberts // *Mycotaxon*. — 1993. — №48. — p 109-140.
266. Singh J. Inhibition of storage fungi of black gram (*Vigna mungo* L.) by some essential oils / J. Singh, N.N. Tripathi // *Flavour Fragrance J.* — 1999. — Vol. 14. — p. 42–44.
267. SM Y. Review of Post-Harvest Losses of Fruits and Vegetables / Y. SM, M. AY // *Biomed. J. Sci. Tech. Res.* — 2019. — Vol. 13 – № 4 – p. 10192–10200.
268. Sneath P.H.A. Numerical Taxonomy / P.H.A. Sneath, R.R. Sokal // Freeman, San Francisco. — 1973.

269. Song X. Mandarin (*Citrus reticulata* L.) essential oil incorporated into chitosan nanoparticles: Characterization, anti-biofilm properties and application in pork preservation / X. Song, L. Wang, T. Liu, Y. Liu, X. Wu, L. Liu // *Int. J. Biol. Macromol.* — 2021. — Vol. 185. — p. 620–628.
270. Stevenson W.R. *Compendium of Potato Diseases*, 2nd ed. / W.R. Stevenson, R. Loria, G. D. Franc; The American Phytopathological Society, St. Paul. 2001. [Online] Available at: re-searchgate. net.
271. Sun, X.-J., Bi, Y., Li, Y.-C., Han, R.-F., Ge, Y.-H., 2008. Postharvest chitosan treatment induces resistance in potato against *Fusarium sulphureum*. *Agr. Sci. China* 7, 615–621.
272. Sung G-H. A multi-gene phylogeny of Clavicipitaceae (Aschomycota, Fungi) identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach / G-H. Sung, J-M. Sung, N.L. Hywel-Jones, J.W. Spatafora // *Molecular Phylogenetics and Evolution.* — 2007. — №44. — p. 1204–1223.
273. Suppakul P. Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging / P. Suppakul, J. Miltz, K. Sonneveld, S.W. Bigger // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* — 2003. — Vol. 51(11). — p. 3197-3207.
274. Swamy M.K. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review / M.K. Swamy, M.S. Akhtar, U.R. Sinniah // *Evid. base Compl. Alternative Med.* — 2016. — p. 1–21.
275. Szymańska E. Stability of chitosan—A challenge for pharmaceutical and biomedical applications / E. Szymańska, K. Winnicka // *Marine Drugs.* — 2015. — Vol. 13(4). — p. 1819–1846.
276. Tamura K. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 / K. Tamura, G. Stecher, S. Kumar // *Molecular Biology and Evolution.* — 1. — <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.
277. Tamura K. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods / K.

- Tamura, D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, S. Kumar // *Molec Biol Evol.* — 2011. — №28 (10):2731-2739.
- 278.** Tamura K. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method / K. Tamura, M. Nei, S. Kumar // *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*. — 2004. — №101:11030-11035.
- 279.** Tamura K., Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees / K. Tamura, M. Nei // *Molecular Biology and Evolution*. — 1993. — №10. — p. 512-526.
- 280.** Tang Z.X. Preparation of chitosan nanoparticles as carrier for immobilized enzyme / Z.X. Tang, J.Q. Qian, L.E. Shi // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. — 2007. — Vol. 136(1). — pp. 77–96.
- 281.** Tegegne G. Antifungal properties of *Agapanthus africanus* L. extracts against plant pathogens / G. Tegegne, J.C. Pretorius, W.J. Swart // *Crop Prot.* — 2008. — Vol. 27. — pp. 1052–60.
- 282.** Thangavelu R. Management of anthracnose disease of banana caused by *Colletotrichum musae* using plant extracts / R. Thangavelu, P. Sundararaju, S. Sathiamoorthy // *J Hort Sci Biotechnol.* — 2004. — Vol. 79. — pp. 664–8.
- 283.** Thompson J. UNIT 2.3 multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX / J. Thompson, T. Gibson, D. Higgins // *Curr Prot Bioinformatics*. — 2002. — №5 (1):6.
- 284.** Timoteo Dos Santos N.S. Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.) / N.S. Timoteo Dos Santos, A.J. Alves Athayde Aguiar, C.E. Vasconcelos De Oliveira, C.V. de Sales, S. de Melo E Silva, R.S. Da Silva, T.C. Montenegro Stamford, E.L. de Souza // *Food Microbiology*. — 2012. — №32(2). — p. 345-353.
- 285.** Toivonen P.M.A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables / P.M.A. Toivonen, D.A. Brummell // *Postharvest Biology and Technology*. — 2008. — №48(1). — p. 1-14.

286. Tripathi P. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables / P. Tripathi, N.K. Dubey // Postharvest Biol. Technol. — 2004. — №32. — p. 235-245.
287. Troncoso-Rojas R. *Alternaria alternata* (black rot, black spot) / R. Troncoso-Rojas, M. E. Tizna-do-Hernández // Postharvest decay. — 2014. — p. 147-187.
288. Vardi Y. Antifungal activity of a new broad spectrum biocide in the controlling of plant diseases / Y. Vardi, M. Reuveni // Phytopathology. — 2009. — №99. — p. 5134.
289. Vaughn, S.F., Spencer, G.F., 1994. Antifungal activity of natural compounds against thiabendazole-resistant *Fusarium sambucinum* strains. J. Agr. Food Chem. 42, 200–203.
290. Velázquez-del Valle M.G. Chitosan as an alternative to control phytopathogenic fungi on fruits and vegetables in Mexico / M.G. Velázquez-del Valle, A.N. Hernández-Lauzardo, M.G. Guerra-Sánchez, G.I. Mariaca-Gaspar // Afri. J. Microbiol. Res. — 2012. — №6. — p 6606-6617.
291. Vieira A.I. Edible Coatings Enriched with Essential Oils on Apples Impair the Survival of Bacterial Pathogens through a Simulated Gastrointestinal System / A.I. Vieira, A. Guerreiro, M.D. Antunes, M.D.G. Miguel, M.L. Faleiro // FOODS. — 2019. — №8(572).
292. Vilaplana R. Control of anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*, on postharvest organic banana by thyme oil / R. Vilaplana, L. Pazmino, S. Valencia-Chamorro // Postharvest Biology and Technology. — 2018. — №138. — p. 56-63.
293. Vinceković M. Encapsulation of herb extracts (Aromatic and medicinal herbs) / M. Vinceković, S. Jurić, M. Marijan, M. Viskić, K. Vlahoviček-Kahlina, L.M. Bandić // Aromatic Herbs in Food: bioactive Compounds, Processing, and Applications. — Academic Press. — 2021. — pp. 263-322.
294. Vu K. Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries / K. Vu, R. Hollingsworth, E. Leroux, S. Salmieri, M. Lacroix // Food Res. Int. — 2011. — №44. — p. 198–203.

295. Walentowska J. Thyme essential oil for antimicrobial protection of natural textiles / J. Walentowska, J. Foksowicz-Flaczyk // *International Biodeterioration & Biodegradation*. — 2013. — Vol. 84(SI). — p. 407-411.
296. Wang S.Y. Effect of allyl isothiocyanate on antioxidant enzyme activities, flavonoids and post-harvest fruit quality of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L., cv. Duke) / S.Y. Wang, C.T. Chen // *Food Chem.* — 2010. — №122. — p. 1153-1158.
297. Wang T.W. Quaternized chitosan (QCS)/poly (aspartic acid) nanoparticles as a protein drug-delivery system / T.W. Wang, Q. Xu, Y. Wu, A.J. Zeng, M. Li, H. Gao // *Carbohydrate Research*. — 2009. — Vol. 344. — pp. 908–914.
298. Wang Y. Microencapsulation of clove essential oil improves its antifungal activity against *Penicillium digitatum* in vitro and green mould on Navel oranges / Y. Wang, W. Bian, X. Ren, X. Song, S. He // *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. — 2018. — №93 (2). — p 159-166.
299. Weber B.N. Resistance to *Alternaria solani* in hybrids between a *Solanum tuberosum* haploid and *S. raphanifolium* / B.N. Weber, S.H. Jansky // *Phytopathology*. — 2012. — Vol. 102. — p. 214–221.
300. Wharton P. Fusarium dry rot / P. Wharton, R. Hammerschmidt, W.W. Kirk // *Michigan State University Extension*. — 2007.
301. White T. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics / T. White, T. Bruns, S. Lee, J. Taylor // In: *PCR Protocols: A guide to methods and applications*, Academic Press, San Diego, Calif, USA. — 1990.
302. Woranuch S. Eugenol-loaded chitosan nanoparticles: I. thermal stability improvement of eugenol through encapsulation / S. Woranuch, R. Yoksan // *Carbohydr. Polym.* — 2013. — №96 (2). — p. 578–585.
303. Wu Y., Yang W., Wang C., Hu J., Fu S. *Int. J. Pharm.* / Y. Wu et al. — 2005. — №295. — p. 235–245.
304. Xiao C. Combined action of pure oxygen pretreatment and chitosan coating incorporated with rosemary extracts on the quality of fresh-cut pears / C. Xiao, L.

- Zhu, W. Luo, X. Song, Y. Deng // Food Chemistry. — 2010. — №121(4). — p. 1003-1009.
- 305.** Xu J. Effect of cinnamon essential oil nanoemulsion combined with ascorbic acid on enzymatic browning of cloudy apple juice / J. Xu, L. Zhou, J. Miao, W. Yu, L. Zou, W. Zhou, W. Liu // Food and Bioprocess Technology. — 2020. — №13(5). — p. 860-870.
- 306.** Xu Y. In vitro antifungal activity of silver nanoparticles against ocular pathogenic filamentous fungi / Y. Xu, C.W. Gao, X.H. Li, et al. // J. Ocul. Pharmacol. Ther. — 2013. — №29. — p. 270-274.
- 307.** Yammine J. Essential oils and their active components applied as: free, encapsulated and in hurdle technology to fight microbial contaminations. A review / J. Yammine, N.E. Chihib, A. Gharsallaoui, E. Dumas, A. Ismail, L. Karam // Heliyon. — 2022. — e12472.
- 308.** Yang H.-C. The effect of the molecular weight of chitosan nanoparticles and its application on drug delivery / H.-C. Yang, M.-H. Hon // Microchemical Journal. — 2009. — Vol. 92. — pp. 87–91.
- 309.** Yikilmazsoy G., Tosun N. Characterization of *Fusarium sambucinum* isolates associated with potato dry rot and evaluation of cultivar susceptibility and fungicides / G. Yikilmazsoy, N. Tosun // Turkish J Agric For. — 2021. — №45 (2). — p. 222-233.
- 310.** Yoksan R. Encapsulation of ascorbyl palmitate in chitosan nanoparticles by oil-in-water emulsion and ionic gelation processes / R. Yoksan, J. Jirawutthiwongchai, K. Arpo // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. — 2010. — №76(1). — p. 292-297.
- 311.** Zaker M. Antifungal activity of some plant extracts on *Alternaria alternata*, the causal agent of *Alternaria* leaf spot of potato / M. Zaker, H. Mosallanejad // Pak. J. Biol. Sci. — 2010. — p. 1023–1029.
- 312.** Zhang W. The multi-layer film system improved the release and retention properties of cinnamon essential oil and its application as coating in inhibition

- to penicillium expansion of apple fruit / W. Zhang, C. Shu, Q. Chen, J. Cao, W. Jiang // Food Chemistry. — 2019. — №299(UNSP 125109).
- 313.** Zhang Y. Organic thyme oil emulsion as an alternative washing solution to enhance the micro-bial safety of organic cantaloupes / Y. Zhang, Q. Ma, F. Critzer, P.M. Davidson, Q. Zhong // Food Control. — 2016. — Vol. 67. — pp. 31-38.
- 314.** Zhao L.M. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers / L.M. Zhao, L.E. Shi, Z.L. Zhang, J.M. Chen, D.D. Shi, J. Yang, Z.X. Tang // Brazilian Journal of Chemical Engineering. — 2011. — Vol. 28(3). — pp. 353–362.
- 315.** Zhong L. Antimicrobial flavonoids from the twigs of *Populus nigra* × *Populus deltoides* / L. Zhong, L. Zhou, Y. Zhou, Y. Chen, P. Sui, J. Wang, M. Wang // Natural product research. — 2012. — №26(4). — p. 307-313.
- 316.** Zillo R.R. Carboxymethylcellulose coating associated with essential oil can increase papaya shelf life / R.R. Zillo, P.P. Moreira Da Silva, J. de Oliveira, E.M. Da Gloria, M.H. Fillet Spoto // Scientia Horticulturae. — 2018. — №239. — p. 70-77.

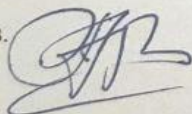
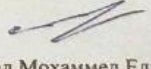
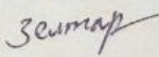
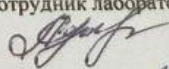
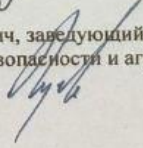
ПРИЛОЖЕНИЯ

Таблица 1. Компонентный состав экстракта почек тополя черного (Сухенко и др., 2023)

№ п/п	Вещество	RI	%
1	этилбензол	870	0.44
2	1,4-ксилен	878	1.27
3	стирен	903	0.25
4	1,2-ксилен	905	0.44
5	пропилбензен	961	0.17
6	1,2,3-триметилбензен	1001	0.27
7	3-бутилоксолан-2-он	1016	0.05
8	1-метил-4-пропан-2-илбензен ; [p-цимен]	1033	0.11
9	(4S)-1-метил-4-проп-1-ен-2-илциклогексен; [β-лимонен]	1037	0.05
10	фенилметанол	1050	0.17
11	неидентифицированное	1067	0.11
12	2-фенилэтанол	1123	2.66
13	бензойная кислота	1198	0.20
14	додекан	1200	0.16
15	2,3-дигидро-1-бензофуран	1242	0.73
16	4-этил-2-метоксифенол	1322	0.32
17	(4aR,8aR)-3,4,4a,5,6,7,8,8a-октагидро-1H-нафтален-2-он	1345	0.10
18	тетрадекан	1400	0.23
19	(1E,4E,8E)-2,6,6,9-тетраметилциклоундека-1,4,8-триен; [α-гумулен]	1449	0.07
20	2-[(E)-гидразинилиденметил]фенол; [салицилальдегид гидразон]	1474	0.76
21	1-метил-4-(6-метилгепт-5-ен-2-ил)бензен	1487	0.13
22	2,6-дитрет-бутил-4-метилфенол; [ионол]	1516	0.17
23	3-этоксibenзамид	1547	0.06
24	гексадекан	1600	0.13
25	(2R)-6-метил-2-[(1R)-4-метилциклогекс-3-ен-1-ил]гепт-5-ен-2-ол; [α-бисаболол]	1689	0.22
26	октадекан	1800	0.08
27	неидентифицированное	1875	0.13
28	(E)-3-(4-гидрокси-3-метоксифенил) проп-2-еновая кислота; [феруловая кислота] (изомер)	1891	0.17
29	(E)-3-(4-гидрокси-3-метоксифенил) проп-2-еновая кислота; [феруловая кислота]	1909	0.94
30	неидентифицированное	1955	0.07

№ п/п	Вещество	RI	%
31	гексадекановая кислота	1977	0.38
32	неидентифицированное	1998	0.16
33	эйкозан	2000	0.40
34	5-(5,5,8a-триметил-2-метилендекагидро-1-нафталенил)-3-метил-1-пентен-3-ол; [маноол]	2052	0.08
35	неидентифицированное	2060	0.13
36	неидентифицированное	2075	0.35
37	генэйкозан	2100	0.16
38	метилоктадеканоат	2133	0.34
39	неидентифицированное	2175	0.42
40	докозан	2200	0.76
41	трикозан	2300	0.67
42	(E)-1-(2,6-дигидрокси-4-метоксифенил)-3-фенилпроп-2-ен-1-он	2399	4.25
43	5,7-дигидрокси-2-фенил-2,3-дигидро-4Н-хромен-4-он; [галангин флаванон]	2491	34.07
44	5-гидрокси-7-метокси-2-фенил-4Н-хромен-4-он; [тектохризин]	2593	11.76
45	неидентифицированное	2676	19.82
46	N-(4-метилфенил)индено[1,2-b]пиридин-5-имин; [4-метилфенилимин]	2735	5.52
47	неидентифицированное	2759	3.08
48	неидентифицированное	2796	3.21
49	(6E,10E,14E,18E)-2,6,10,15,19,23-гексаметилтетракоза-2,6,10,14,18,22-гексаен; [сквален]	2818	3.80

Акт о внедрении результатов научной и инновационной деятельности

УТВЕРЖДАЮ Глава КФХ Гафаров Н.В.  10 февраля 2023 г.	УТВЕРЖДАЮ проректор по научной деятельности и приоритетным проектам Астраханского государственного университета имени В.Н.Татищева Басва Л.В.  10 февраля 2023 г.
АКТ о внедрении (использовании) результатов научной и инновационной деятельности	
1. Автор (соавторы) внедрения: Зеитар Елсайед Мохаммед Елшахат Хассан, Сухенко Людмила Тимофеевна. 2. Источник предложения: кандидатская диссертация. 3. Название объекта внедрения: «Разработка биологической защиты клубней картофеля от послеуборочных грибных заболеваний эфирными маслами инкапсулированными нанохитозаном и экстрактами» 4. Крестьянско-фермерское хозяйство: 5. Дата начала отсчета внедрения: апрель 2020 г. - декабрь 2022 г.	
Заключение об эффективности внедрения: В результате предварительных работ введения в производство технологии биологической защиты картофеля от грибных поражений сухой гнилью, вызываемой <i>Fusarium sp.</i> и <i>Alternaria sp.</i>, с применением экстрактов тополя черного и нанопрепаратов эфирных масел растительного происхождения позволяет заметно подавлять признаки грибных болезней картофеля: снижалась степень поражения сухой гнилью клубней картофеля, уменьшалась степень агрессивности возбудителя, что способствовало снижению пестицидной нагрузки и получению экологически безопасной продукции.	
Представители от КФХ Гафаров Н.В.: Гафаров Н.В. 	Представители от Астраханского государственного университета имени В.Н.Татищева: Яковлева Людмила Вячеславовна, заведующая кафедрой Биотехнологии, биоэкологии, почвоведения и управления земельными ресурсами, д.б.н.  Зеитар Елсайед Мохаммед Елшахат Хассан, аспирант;  Сухенко Людмила Тимофеевна, профессор кафедры Биотехнологии, биоэкологии, почвоведения и управления земельными ресурсами, главный научный сотрудник лаборатории Биотехнологии, д.б.н.  Пучков Михаил Юрьевич, заведующий лабораторией Продовольственной безопасности и агротехнологий, 

Акт о внедрении результатов научной и инновационной деятельности

УТВЕРЖДАЮ

Глава КФХ Ануфриев Е.А.

Ануфриев Е.А.

"15" июня 2023 г.



УТВЕРЖДАЮ

проректор по научной деятельности и
приоритетным проектам
Астраханского государственного университета
имени В.Н.Татищева
Баева Л.В.



АКТ

о внедрении (использовании) результатов научной и инновационной деятельности

1. Автор (соавторы) внедрения: Зеитар Елсайед Мохаммед Елшахат Хассан, Сухенко Людмила Тимофеевна.
2. Источник предложения: кандидатская диссертация.
3. Название объекта внедрения: «Разработка биологической защиты клубней картофеля от послеуборочных грибных заболеваний эфирными маслами инкапсулированными нанохитозаном и экстрактами»
4. Наименование организации, где используются результаты исследования:
Крестьянско-фермерское хозяйство Ануфриев Евгений Александрович
5. Дата начала отсчета внедрения: декабрь 2022 г. - май 2023 г.
6. Заключение об эффективности внедрения: В результате внедрения технологии использования нанопрепаратов растительного происхождения (эфирные масла чайного дерева и лаванды инкапсулированными нанохитозаном, и экстракта почки черного тополя) на клубнях картофеля при хранении уменьшилось поражение грибными болезнями сухой гнили, что способствовало снижению пестицидной нагрузки и получению экологически безопасной продукции.

Представители от КФХ Ануфриев Е.А.:

Ануфриев Евгений Александрович, глава КФХ

Представители от

Астраханского государственного университета
имени В.Н.Татищева:

Яковлева Людмила Вячеславовна, заведующая
кафедрой Биотехнологии, биозкологии,
почвоведения и управления земельными ресурсами,
д.б.н.

Зеитар Елсайед Мохаммед Елшахат Хассан,
аспирант;

Сухенко Людмила Тимофеевна, профессор кафедры
Биотехнологии, биозкологии, почвоведения и
управления земельными ресурсами, главный
научный сотрудник лаборатории Биотехнологии,
д.б.н.

Пучков Михаил Юрьевич, заведующий лабораторией
Продовольственной безопасности и агротехнологий,
д.с.х.н.