

Научная статья

Original article

УДК 632.4:635.21

DOI 10.55186/27131424\_2024\_6\_2\_2



**ПРИМЕНЕНИЕ НЕТЕРМАЛЬНОЙ АРГОНОВОЙ ПЛАЗМЫ ПРОТИВ  
ВОЗБУДИТЕЛЯ ФИТОФТОРОЗА (PHYTOPHTHORA SPP)**

**THE EFFECT OF NON-THERMAL ARGON PLASMA ON THE CAUSATIVE  
AGENT OF LATE BLIGHT (Phytophthora spp)**

**Петрухина Дарья Игоревна**, к.б.н., старший научный сотрудник, НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ, г. Обнинск

**Харламов Владимир Александрович**, к.б.н., и.о. заведующего лабораторией, НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ, г. Обнинск

**Горбатов Сергей Андреевич**, научный сотрудник, аспирант, НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ, г. Обнинск

**Меджидов Ибрагим Меджидович**, научный сотрудник, аспирант, НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ, г. Обнинск

**Petrukhina D.I.** [daria.petrukhina@outlook.com](mailto:daria.petrukhina@outlook.com)

**Kharlamov V.A.** [kharlamof@gmail.com](mailto:kharlamof@gmail.com)

**Gorbatov S.A.** [gorbatovsa004@gmail.com](mailto:gorbatovsa004@gmail.com)

**Medzhidov I.M.** [immedzhidov@mail.ru](mailto:immedzhidov@mail.ru)

**Аннотация**

Были проведены лабораторные эксперименты по определению эффектов нетермальной плазменной струи на возбудителя фитофтороза. Споры Phytophthora

spp. гибнут перед заражением – прорастанием спор в субстрат. Антифитофторозный эффект плазмы на споры наблюдали как через 2 ч после посева на субстрат, так и через 10 ч после посева. Уже после экспозиции в течение 1 мин степень ингибирования превышала 90 %. Воздействие аргоновой плазмой на суховоздушный мицелий приводила к снижению количества выживших спор. Степень ингибирования числа КОЕ от контроля превышала 90 % после 10 мин экспозиции.

### S u m m a r y

The experiments were performed to determine the effect of a non-thermal plasma jet on the causative agent of late blight. *Phytophthora* zoospores dying before infecting - germination of spores to the substrate. The effect against late blight of plasma treatment was recorded both after 2 h to spores sowing on the substrate and after 10 h to spores sowing. After a short-term exposure for 1 min, the degree of zoospore inhibition exceeded 90 %. Exposure of the non-thermal plasma jet on a dry-air *Phytophthora* spp. mycelium led a decrease in the number of surviving spores. The degree of inhibition of the CFU number from the control exceeded 90 % after 10 min of plasma exposure.

**Ключевые слова:** холодная плазма, СВЧ-плазма, *Solanum tuberosum* L., фитопатогены, грибковые заболевания растений, псевдогрибы, оомицеты.

**Keywords:** cold plasma, microwave plasma, *Solanum tuberosum* L., phytopathogens, fungal diseases of plants, fungus-like microorganism, oomycete.

Оомицеты рода *Phytophthora* являются возбудителями фитофтороза у разных видов растений и может переходить с одного растения на другое. Среди сельхозкультур фитофтороз поражает картофель, томаты, перец, баклажаны, а также плодовые деревья (Пляхневич и др., 2006). Это заболевание наиболее вредоносно своим ранним проявлением и высокой скоростью развития в течение вегетационного сезона (Филиппов, 2012). Вредоносность фитофтороза можно уменьшить с помощью интегрированной защиты, включающей использование здорового семенного материала, устойчивых сортов, а также химических средств защиты. Несмотря на значительные успехи селекции, наиболее надежным способом защиты от фитофтороза остается химический метод (Кузнецова и др.,

2015). Однако после того, как были получены первые фитофтороустойчивые сорта сельхозкультур и началось их коммерческое выращивание, вскоре накопились вирулентные расы возбудителя фитофтороза. Проблемы возникли и при использовании химических методов защиты. Повсеместное их применение быстро привело к накоплению в грибных популяциях резистентных к некоторым химическим веществам штаммов (Еланский и др., 2007).

Действия нетермальной или холодной плазмы атмосферного давления на возбудителя фитофтороза сельскохозяйственных культур не исследовано и потому является актуальной задачей. Нетермальная плазма в воздухе над поверхностью суспензий клеток или биологических тканей рассматривается как генератор активных форм кислорода и азота, ионов, сольватированных/акватированных электронов (Оловянникова и др. 2020). Особенности нетермальной плазмы с температурой видимой части факела 40–42° С в том, что ее температура близка к температуре биологических объектов, что позволяет применять данный тип плазмы к живым системам (Тихонов, Гостев, 2012).

Целью данной работы стала оценка действия нетермальной плазменной струи на *Phytophthora spp.*

### **Материалы и методы исследования**

Источник нетермальной плазменной струи разработан во ВНИИРАЭ, Обнинск. Создание и поддержание микроволнового (стримерного) разряда происходит в потоке аргона при давлении близком к атмосферному. Температура газа на выходе из сопла была 25...30 °С. Исследование проводили в лабораторных условиях. Использовался изолят *Phytophthora spp.* с картофеля, который был выделен и предоставлен из ВНИИ картофельного хозяйства имени А. Г. Лорха.

Использовали суховоздушные образцы мицелия сроком хранения от 2 мес. до 2 лет. Изучали зависимость антифитофторозной активности нетермальной плазмы от длительности экспозиции. Из обработанных плазмой и контрольных, образцов без экспозиции плазмой, готовили смывы по общепринятой методике и высевали на картофельно-сахарозный агар.

В экспериментах на споры *Phytophthora spp.* готовили инокулюм – смыв с поверхности картофельно-сахарозного агара с 7-ми-суточной культурой. На чашки

## Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral"

Петри вносили 50 мкл инокулюма и засеивали сплошным газом. Экспозицию плазмой проводили после посева смыва на поверхность плотной среды. Изучали: зависимость ингибирующего действия плазмы от периода инкубации посева зооспор перед экспозицией; зависимость ингибирующего действия плазмы от длительности экспозиции. Контролем служили посева, без предварительной экспозиции плазмой.

Посевы на чашках Петри инкубировали 15 сут при +20...22 °С. Основным показателем действия плазмы были изменения количества КОЕ на плотной среде. Процент ингибирования роста КОЕ фитопатогена определяли по формуле:  $((КОЕ_{\text{контроль}} - КОЕ_{\text{опыт}}) / КОЕ_{\text{контроль}}) * 100 \%$ . В таблицах количественные значения представлены в виде  $M \pm \sigma$  (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение).

### Результаты экспериментов

Было продемонстрировано значительное влияние аргоновой плазменной струи на суховоздушный мицелий *Phytophthora* spp. Динамика числа КОЕ возбудителя фитофтороза в зависимости от длительности экспозиции плазмой приведена в табл. 1.

Таблица 1 Количество КОЕ на чашку на 10 сутки в зависимости от длительности экспозиции на мицелий

Длительность экспозиции, мин	Контроль	5	10	15
ср. зн	220	161	6	3
ст. откл	33	32	1	1
Степень ингибирования роста числа КОЕ % от контроля	-	26,8	97,3	98,6

Значимый эффект от экспозиции аргоновой плазмой был продемонстрирован как на суховоздушный мицелий, хранящийся 2 г., так и 2 мес. Степень ингибирования числа КОЕ *Phytophthora* spp. увеличивалась с возрастанием длительности экспозиции плазмой. Степень ингибирования превышала 90 % уже после 10 мин экспозиции. После 5 мин экспозиции значимого эффекта на мицелий, хранящийся 2 месяца, не наблюдалось (табл. 2).

Таблица 2 Воздействие нетермальной плазмы на суховоздушный мицелий

Длительность хранения мицелия	2 месяца		2 года	
	20 мин	Контроль	15 мин	Контроль
Длительность экспозиции	20 мин	Контроль	15 мин	Контроль

## Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral"

ср. зн	6,50	151,00	3,00	219,67
ст. откл	0,71	26,87	1,00	32,65
Степень ингибирования числа КОЕ, % от контроля	95,70	-	98,63	-

Дальнейшие эксперимента показали высокую чувствительность зооспор возбудителя фитофтороза к воздействию нетермальной аргоновой плазмы непосредственно после посева (табл. 3). Значимой корреляции снижения количества жизнеспособных зооспор фитопатогена от увеличения времени экспозиции плазмой не зафиксировали. Уже после 1 мин экспозиции количество колоний *Phytophthora* spp. снижалось на 87 %. После 5 и 10 мин экспозиции происходило полное ингибирование.

Таблица 3 Количество КОЕ на 10 сутки инкубации после экспозиции зооспор плазмой сразу после посева

Длительность экспозиции, мин	Контроль	1	5	10
ср. зн	94	12	1	0
ст. откл	9	4,8	0	0
Степень ингибирования роста числа КОЕ % от контроля	-		100	100

В следующем варианте эксперимента экспозицию плазмой на зооспоры проводили через 1 ч и через 10 ч после посева на плотную питательную среду. Результаты также показали высокую чувствительность зооспор *Phytophthora* spp. к аргоновой плазме (табл. 4).

Таблица 4 Действие нетермальной плазмы на возбудитель фитофтороза в различные сроки после посева зооспор на чашки Петри

В различные сроки после посева до экспозиции плазмой	Контроль	2 ч		10 ч	
Длительность экспозиции, мин	-	1	10	1	10
ср. зн	199	10,00	0,00	0,00	0,00
ст. откл	2,52	17,32	0,00	0,00	0,00
Степень ингибирования роста числа КОЕ % от контроля	-	94,98	100	100	100

Действие аргоновой плазмы на возбудитель фитофтороза наблюдали как через 2 ч после посева зооспор на плотную питательную среду, так и через 10 ч после

## Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral"

посева. Степень ингибирования роста КОЕ превышала 90 % даже после кратковременной экспозиции плазмой в течение 1 мин.

### **Обсуждение**

По результатам проведенного исследования можно сделать вывод об антифитофторозной активности нетермальной плазменной струи.

Как показали результаты исследований, нетермальная аргоновая плазма способна подавить рост зооспор возбудителя фитофтороза спустя 10 ч после попадания зооспор на поверхность плотной питательной среды в чашках Петри. Эти результаты демонстрируют защитную активность плазмы, потому что в литературе указано, что прорастание зооспорангиев в зооспоры, происходящее на молодом мицелии в течение 1,5...2 ч, обеспечивает самое быстрое нарастание инфекции в поле, так как для прямого прорастания их в ростовые трубки требуется 5...8 ч (Ильяшенко Д. А. и соавт., 2010).

Таким образом, для выраженного антифитофторозного действия необходимо воздействие на споры патогена до момента заражения. На практике это актуально после уборки сельхозпродукции. Кроме того, целесообразно дальнейшее исследование эффективности нетермальной плазменной струи с целью борьбы с остатками суховоздушным мицелием на поверхности сельхозпродуктов. Этот суховоздушный мицелий в процессе хранения может дать начало развитию болезни.

### **Заключение**

В данном эксперименте была показана эффективность нетермальной аргоновой плазмы против сухого мицелия фитопатогена. Наблюдалось подавление роста КОЕ после воздействия на мицелий, хранящийся от 2 месяцев и с 2 лет. Выраженность антифунгального эффекта зависела от времени экспозиции плазмы на объект. Степень ингибирования превышала 90 % после 10 мин экспозиции.

Также в данном исследовании показано, что споры возбудителя фитофтороза гибнут перед заражением на чашках Петри. Поэтому, экспозиция плазмой должна быть проведена до прорастания спор. Наблюдалось как через 2 ч после посева, так и

через 10 ч после посева. Степень ингибирования превышала 90 % даже после кратковременного воздействия в течение 1 мин.

### Литература

1. Еланский С. Н., Дьяков Ю. Т., Милотина Д. И., Апрышко В. П., Побединская М. А., Филиппов А. В., Козловский Б. Е., Кузнецова М. А., Рогожин А. Н., Стацюк Н. В. Популяции возбудителя фитофтороза картофеля в России // Картофелеводство России: актуальные проблемы науки и практики: материалы Междунар. конгресса «Картофель. Россия – 2007 г. – 2007. – С. 103-111.
2. Ильяшенко Д. А., Иванюк В. Г., Калач В. И., Ерчик В. М., Пляхневич М. П., Софьин О. Ф. Методические указания по оценке картофеля на устойчивость к клубневым гнилям. – Самохваловичи: РУП «Науч.-практ. центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству», 2010. 52 с.
3. Кузнецова М. А., Рогожин А. Н., Сметанина Т. И., Дорофеева Л. Л. Новое решение против фитофтороза и альтернариоза // Картофель и овощи. 2015. №. 7. С. 27-29.
4. Оловянная Р. Я., Макаренко Т. А., Лычковская Е. В., Гудкова Е. С., Мурадян Г. А., Медведева Н. Н., Чекишева Т.Н., Бердников С.И., Семичев Е. В., Малиновская Н. А., Салмина А. Б., Салмин В. В. Химические механизмы действия холодной плазмы на клетки // Фундаментальная и клиническая медицина. 2020. Т. 5. №. 4. С. 104-116.
5. Пляхневич М. П. Современные методы прогноза развития фитофтороза картофеля // Весці НАН Беларусі Серыя Аграрных Навук. 2006. №. 5. С. 138-140.
6. Тихонов Е. А., Гостев К. В. Перспективы применения холодной плазмы промышленности в сфере живых систем // Наука и бизнес: пути развития. 2012. № 3(09). С. 75-78.
7. Филиппов А. В. Фитофтороз картофеля // Защита и карантин растений. 2012. Т. 5. С. 61-88.

**Literature**

1. Elansky S. N., Dyakov Yu. T., Milyutina D. I., Apryshko V. P., Pobedinskaya M. A., Filippov A. V., Kozlovsky B. E., Kuznetsova M. A., Rogozhin A. N., Statsyuk N. V. Populations of the causative agent of potato late blight in Russia // Potato growing in Russia: current problems of science and practice: materials of the International. Congress "Potatoes. Russia – 2007 – 2007. – pp. 103-111.
2. Plyashenko D. A., Ivanyuk V. G., Kalach V. I., Erchik V. M., Plyakhnevich M. P., Sofin O. F. Guidelines for assessing potatoes for resistance to tuberous rot. – Samokhvalovichi: RUE "Scientific and practical. Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Potato and Fruit and Vegetable Growing", 2010. 52 p.
3. Kuznetsova M. A., Rogozhin A. N., Smetanina T. I., Dorofeeva L. L. New solution against late blight and alternaria // Potatoes and vegetables. 2015. No. 7. pp. 27-29.
4. Olovyannikova R. Ya., Makarenko T. A., Lychkovskaya E. V., Gudkova E. S., Muradyan G. A., Medvedeva N. N., Chekischeva T.N., Berdnikov S.I., Semichev E.V., Malinovskaya N.A., Salmina A.B., Salmin V.V. Chemical mechanisms of the action of cold plasma on cells // Fundamental and Clinical Medicine. 2020. Vol. 5. No. 4. pp. 104-116.
5. Plyakhnevich M. P. Modern methods for predicting the development of potato late blight // News of the National Academy of Sciences of Belarus and Gray Agrarian Sciences. 2006. No. 5. pp. 138-140.
6. Tikhonov E. A., Gostev K. V. Prospects for the use of cold plasma in industry in the field of living systems // Science and business: ways of development. 2012. No. 3(09). pp. 75-78.
7. Filippov A.V. Late blight of potatoes // Protection and quarantine of plants. 2012. T. 5. P. 61-88.

© Петрухина Д.И., Харламов В.А., Горбатов С.А., Меджидов И.М., 2024  
Международный журнал прикладных наук и технологий «Интеграл», № 2/2024

**Для цитирования:** Петрухина Д.И., Харламов В.А., Горбатов С.А., Меджидов И.М. Применение нетермальной аргоновой плазмы против возбудителя фитофтороза (*Phytophthora spp*)// Международный журнал прикладных наук и технологий «Интеграл», № 2/2024