

УДК 632.4:635.21
EDN: FSXZRW

PACS: 52.50.Dg; 52.75.-d; 52.77.-j



Инактивация суховоздушного мицелия *Phytophthora* spp аргоновой нетермальной плазменной струей

Д. И. Петрухина, В. А. Харламов, С. А. Горбатов, И. М. Меджидов

*Проведены лабораторные эксперименты по воздействию нетермальной плазменной струи на суховоздушный мицелий *Phytophthora* spp. Анти-фитофторозную активность аргоновой плазмы учитывали по изменению количества колониеобразующих единиц *Phytophthora* spp. на плотной питательной среде. Степень ингибирования числа КОЕ превышала 90%. Выраженность антифунгального эффекта плазменной струи зависела от длительности экспозиции плазмой на суховоздушный мицелий.*

Ключевые слова: холодная плазма, аргоновая СВЧ-плазма, *Solanum tuberosum* L., фитопатогены, *Phytophthora* spp., фитофтороз.

DOI: 10.51368/1996-0948-2024-2-51-56

Введение

Картофель – это одна из важнейших сельскохозяйственных культур универсального использования. Длительное хранение картофеля является обязательным этапом его производства. К болезням хранения картофеля относятся те, которые могут существенно прогрессировать в период хранения и развитие которых определяется условиями хранения. Одной из наиболее вредоносных болезней является фитофтороз [1]. Распространение мицелия возбудителя фитофтороза внутри клубня может происходить очень быстро [2]. Поражение клубней фитофторозом опасно потому, что снижает

общий неспецифический иммунитет. В результате пораженные клубни становятся легкой добычей оппортунистических грибов и бактерий, которые вызывают быстрое гниение клубня и распространяются на соседние. Партии картофеля, где более 10% зараженных фитофторозом клубней, могут сгнить полностью [3]. Попадание инфекции в клубни происходит в период вегетации [4], но считается, что наибольший риск заражения клубней фитофторозом возникает во время выкопки урожая, когда поврежденные клубни контактируют с зараженной ботвой [3]. Сильно пораженные клубни при хранении сгнивают; в слабо пораженных инфекция может сохраняться до следующего сезона [5, 6].

Существуют наиболее существенные приемы контроля болезней хранения картофеля, такие как формирование прочной кожуры, минимализация ее повреждений в процессе уборки, быстрая просушка вороха после поступления в хранилище, а также обработка клубней химическими средствами защиты при поступлении в хранилище, поддержание оптимальных режимов температуры и влажности [1].

Защита клубней средствами защиты растений в начале хранения существенно уменьшает развитие поверхностной инфекции.

Петрухина Дарья Игоревна, с.н.с., к.б.н.

E-mail: daria.petrukhina@outlook.com

Харламов Владимир Александрович, с.н.с., к.б.н.

Горбатов Сергей Андреевич, н.с.

Меджидов Ибрагим Меджидович, н.с.

НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ.

Россия, 249035, Калужская область, г. Обнинск,

Киевское шоссе, 1, к. 1.

Статья поступила в редакцию 9.10.2023

После доработки 16.02.2024

Принята к публикации 26.02.2024

Шифр научной специальности: 1.3.9

© Петрухина Д. И., Харламов В. А., Горбатов С. А.,
Меджидов И. М., 2024

Однако действие нетермальной плазмы атмосферного давления на *Phytophthora* spp. – возбудителя болезней сельскохозяйственных культур, в том числе картофеля, недостаточно исследовано и нуждается в дополнительном изучении. Опубликованных результатов литературы по действию плазмы на мицелий *Phytophthora* spp найдено не было.

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

Эксперимент

Источник нетермальной плазменной струи разработан во ВНИИРАЭ (г. Обнинск). Его характеристики были отражены в ряде публикаций [7–9]. Создание и поддержание микроволнового (стримерного) разряда происходило в потоке аргона при давлении близком к атмосферному. Использовался 12-гранный тип разрядника. Рабочая частота генерации – 2,45 ГГц. Сечение волновода – 96×46 мм. Генерируемая СВЧ-мощность – от 1,2 кВт до 2,5 кВт. Режим работы – повторно-периодический. Напряжение питания – 220/380 В. Охлаждение – водяное. Датчик протока, защитная блокировка – 1,2 л/мин. Габаритные размеры Д×Ш×В – 360×150×250 мм. Вес блока – не более 5 кг. Для снижения температуры потока и сохранения ионизации на внешнюю сторону разрядника плазменного источника устанавливается газовый концентратор, выполненный из листа (толщина 0,4 мм) нержавеющей стали AISI 304. Концентратор представляет собой тонкостенную камеру в виде усеченного конуса. Первый вариант исполнения концентратора, рассчитанный для использования с чашкой Петри: диаметры оснований конуса 60 и 110 мм, высота 170 мм. В настоящее время наилучшая стабильность работы установки достигается при скорости подачи аргона: 4–5 л/мин. Температура газа на выходе из концентраторов была 25–30 °С.

Исследование действия нетермальной аргоновой плазменной струи проводили в лабораторных условиях. В исследовании использовался изолят *Phytophthora* spp. с картофеля, который был выделен и предоставлен из ВНИИ картофельного хозяйства имени А. Г. Лорха. Были использованы сухие образ-

цы мицелия, высушенные при комнатной температуре. Срок хранения мицелия составлял 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. 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: $((\text{КОЕ}_k - \text{КОЕ}_0) / \text{КОЕ}_k) \times 100 \%$; где КОЕ_k – количество КОЕ в контроле, КОЕ_0 – в опыте.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программ Excel. В таблицах количественные значения представлены в виде $M \pm \sigma$ (среднее значение \pm стандартное отклонение), медиана, минимальное и максимальное значения.

Результаты и их обсуждение

В работе использовался разработанный и изготовленный в нашем институте (ВНИИРАЭ, г. Обнинск) опытный образец многоцелевого СВЧ-плазмотрона. СВЧ-разряд инициируется при протекании плазмообразующего газа через горелку, при этом разрядные каналы формируются между стержневыми электродами и внутренней стенкой разрядной камеры вблизи выходного отверстия камеры. Следует отметить, что зарубежным аналогом горелки плазмотрона является горелка генератора низкотемпературной аргоновой плазмы MicroPlaSter β японской компании ADTEC Plasma Technology Co. Ltd. Данный генератор является узкоспециализированным прибором, предназначенным для медико-биологических задач (клинических исследований), к недостаткам которого относятся: высокая цена, значительные весогабаритные характеристики, ограниченный диапазон рабочих параметров, затрудненность перенастройки и внесения изменений (модификации).

Согласно литературным данным, в нетермальной плазме образуется целый спектр радикалов и возбужденных частиц с высокой реакционной способностью. Основной осо-

бенностью генерации такой плазмы является то, что электрическая энергия используется в основном для производства энергетичных электронов без существенного нагрева газовой среды. В последнее время неравновесные плазменные процессы все больше исследуются в СВЧ-разрядах и плазменных струях на их основе, обладающих гораздо более высокой плотностью зарядов и, как следствие, большей реакционной способностью по сравнению с ВЧ-разрядами при одной и той же мощности. При этом температуру газового потока в струе при помощи специальных мер можно понизить практически до комнатной, что позволяет проводить плазменную обработку поверхности термочувствительных материалов (в том числе, биологических объектов) [10].

В качестве плазмообразующего газа использовался Ar высокой частоты (99,998 %), скорость потока которого регулировалась в диапазоне нескольких литров в минуту. В режиме непрерывного горения разряда было получено, что между стержневыми электродами и внутренней стенкой камеры образуются диффузные каналы тлеющего типа.

Нами были получены спектры аргоновой СВЧ-плазмы на спектрометре AvoSpec. Спектр генерируемой плазмы затем был сопоставлен со спектром аргона (Ar) по литературным данным из открытого источника. Данные демонстрируют, что световое излучение генерируемой нами плазмы полностью

соответствует спектру излучения атомарного аргона, и отсутствию значимых количеств других примесей газов. Это соответствует литературным данным о низкой степени ионизации неравновесной плазмы. Кроме того, это показывает отсутствие примесей других газов и использование в эксперименте только плазмы инертного газа аргона.

Результаты экспериментов продемонстрировали значительное влияние аргоновой плазменной струи на суховоздушный мицелий *Phytophthora* spp. Чашки с *Phytophthora* spp. на 10 сут инкубации после экспозиции плазмой на суховоздушный мицелий представлены на рисунке. Динамика роста КОЕ возбудителя фитофтороза на чашках Петри в зависимости от длительности экспозиции приведена в таблице 1.

Эксперименты показали значимый эффект от экспозиции аргоновой плазмой на суховоздушный мицелий, хранящийся как 2 года (табл. 2а), так и 2 месяца (табл. 2б). В таблице 2а,б представлены обобщенные результаты по экспериментам. Результаты показали, что 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.



Рисунок. Зависимость КОЕ *Phytophthora* spp. от длительности экспозиции плазмой. Слева на право: контроль, 5 мин, 10 мин, 15 мин.

Таблица 1

Влияние нетермальной плазменной струи на суховоздушный мицелий

Время выдержки	Количество колоний на чашку/сутки		
	1 сут	3 сут	10 сут
0 мин (контроль)	0	Начало роста	220 ± 33
5 мин.	0	Единичные колонии	161 ± 32
10 мин.	0	0	6 ± 1
15 мин.	0	0	3 ± 1

Таблица 2а

Антифитофторозная активность нетермальной плазмы на суховоздушный мицелий

Длительность хранения мицелия	2 года			
	5 мин	10 мин	15 мин	0 мин (контроль)
Длительность экспозиции				
ср. зн	160,67	5,67	3,00	219,67
ст. откл	32,65	1,15	1,00	32,65
медиана	147,00	5,00	3,00	216,00
мин	138,00	5,00	2,00	189,00
макс	197,00	7,00	4,00	254,00
Степень ингибирования числа КОЕ, % от контроля	26,86	97,42	98,63	-

Таблица 2б

Антифитофторозная активность нетермальной плазмы на суховоздушный мицелий

Длительность хранения мицелия	2 месяца		
	5 мин	20 мин	0 мин (контроль)
Длительность экспозиции			
ср. зн	149,00	6,50	151,00
ст. откл	12,73	0,71	26,87
медиана	149,00	6,50	151,00
мин	140,00	6,00	132,00
макс	158,00	7,00	170,00
Степень ингибирования числа КОЕ, % от контроля	1,32	95,70	-

Соблюдение мер на основании стандарта (РСТ РСФСР 763-90 Картофель. Уборка.) обеспечивает минимальные риски заражения клубней. «Типовой технологический процесс уборки должен обеспечить сбор выращенного урожая в сжатые сроки с минимальными потерями при сохранении его качества. После выкопки картофелекопателями клубни выдерживают в валках в течение 3–4 часов. Уничтожение ботвы за 12 суток до уборки. Повреждение клубней возрастает при низких температурах уборки. Уборку необходимо проводить при температуре почвы не ниже 8 °С. При оптимальной влажности почвы (20–24 %)» [11]. А на сухой поверхности споры микроорганизмов лишены возможности прорасти и развиваться. Но капельная вода способствует внедрению спор в ткани клубней через устьица, но сильнее всего через повреждения кожуры. Начинается развитие микробиологической порчи, потери от которой многократно больше, чем от испарения. Поэтому борьба с отпотеванием считается первоочередной задачей хранения. Отпотевание происходит, если температура продукта опускается ниже точки росы. В этой связи нужно очень взвешенно подходить к использованию систем

увлажнения воздуха. Проблемные партии подвергать дополнительному увлажнению крайне рискованно [1].

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что обработка аргоновой плазмой может быть целесообразна на сухой мицелий с целью снижения количества выживших спор.

В дальнейшем, для возможности применения плазменной обработки с целью сохранения урожая картофеля необходимы дополнительные эксперименты. В частности, по воздействию плазмы на клубни, а также на тары и на упаковки с целью борьбы с остатками суховоздушного мицелия. Этот суховоздушный мицелий в процессе хранения картофеля может дать начало развитию болезни, как описано выше.

Однако в представленной статье приведены данные только лабораторного эксперимента.

Холодное, сухое хранение после быстрой просушки и эффективного залечивания повреждений кожуры с проведением обработки клубней дезинфицирующими и лечебными средствами в максимальной степени сохраняют исходное качество клубней [1].

Заключение

Обработка с помощью плазменной струи на основе СВЧ-источника оказывала негативное влияние на мицелий. Обработка аргоновой плазмой может быть целесообразна на сухой мицелий с целью снижения количества выживших спор. Наблюдали 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. Во время проведения лабораторных экспериментов температуру на поверхности субстрата контролировали, она не превышала 26 ± 2 °C. Однако, дальнейшие исследования должны быть направлены на оценку потенциальных изменений пищевых качеств картофеля после воздействия нетермальной плазмы, а также ростовых качеств клубней. Такие исследования в дальнейшем позволят оценить возможность применения нетермальной плазменной струи для сохранения урожая картофеля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Банадысев С. А. / Защита картофеля. 2020. № 1. С. 3–4.
2. Осолодкова Е. В. / Научный электронный журнал «Матрица научного познания». 2021. С. 19–22.
3. Дьяков Ю. Т. / Природа. 2002. № 1. С. 33–39.
4. 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.
5. Дьяков Ю. Т., Еланский С. Н. / Микология сегодня. 2007. Т. 1. С. 107–139.
6. Еланский С. Н., Кокаева Л. Ю., Стацюк Н. В., Дьяков Ю. Т. / Защита картофеля. 2017. № 3. С. 3–44.
7. Антипов С. Н., Гаджиев М. Х., Терешонок Д. В., Горбатов С. А., Иванов И. А., Тихонов В. Н., Тихонов А. В., Абрамов А. Г., Угрюмов А. В. / Прикладная физика. 2022. № 6. С. 5–11.
8. Тихонов В. Н., Иванов И. А., Крюков А. Е., Тихонов А. В. / Прикладная физика. 2015. № 5. С. 102–106.
9. Горбатов С. А., Иванов И. А., Тихонов А. В., Тихонов В. Н., Шестериков А. Ю. / Приборы и техника эксперимента. 2021. № 1. С. 155–156.
10. Антипов С. Н., Чепелев В. М., Гаджиев М. Х., Абрамов А. Г., Угрюмов А. В. / Физика плазмы. 2023. Т. 49. № 5. С. 407–411.
11. Бочкарев В. В., Кияшко Н. В., Обухов В. П. Уборка и хранение картофеля, корнеплодов и овощей: учебное пособие. – Уссурийск: ФГБОУ ВО Приморская ГСХА, 2015.

PACS: 52.50.Dg; 52.75.–d; 52.77.–j

Inactivation of dry-air mycelium *Phytophthora* spp by argon nonthermal plasma jet

D. I. Petrukhina, V. A. Kharlamov, S. A. Gorbатов and I. M. Medzhidov

NRC «Kurchatov Institute» – RIRAE
Bd. 1, 1. Kievskoe shosse, Obninsk, Kaluga Region, 249035, Russia
E-mail: daria.petrukhina@outlook.com

Received 9.10.2023; revised 16.02.2024; accepted 26.02.2024

Laboratory experiments were performed to the non-thermal plasma jet effect on a dry-air *Phytophthora* spp. mycelium. Anti-*Phytophthora* activity of the argon plasma was taken into account by amount changing of *Phytophthora* colony forming units on a dense nutrient medium in Petri dishes. The inhibition degree of the CFU number from the control exceeded 90 %. The antifungal effect severity of the plasma jet depended on a plasma exposure duration to dry-air mycelium.

Keywords: cold plasma, argon microwave plasma, *Solanum tuberosum* L., phytopathogens, *Phytophthora* spp., late blight.

REFERENCES

1. Banadysev S. A., Potato protection, № 1, 3–4 (2020) [in Russian].
2. Osolodkova Ye. V., Nauchnyy elektronnyy zhurnal «Matritsa nauchnogo poznaniya», 19–22 (2021) [in Russian].
3. D'yakov Yu. T., Priroda, № 1, 33–39 (2002) [in Russian].
4. Il'yashenko D. A., Ivanyuk V. G., Kalach V. I., Yerchik V. M., Plyakhnevich M. P. and Sof'in O. F. Guidelines for evaluating potatoes for resistance to tuberous rot. Samokhvalovichi: RUP «Nauch.-prakt. tseñtr NAN Belarusi po kartofelevodstvu i plodoovoshchevodstvu», 2010 [in Russian].
5. D'yakov Yu. T. and Yelanskiy S. N., Mycology Today **1**, 107–139 (2007) [in Russian].
6. Yelanskiy S. N., Kokayeva L. Yu., Statsyuk N. V. and D'yakov Yu. T., Potato protection, № 3, 3–44 (2017) [in Russian].
7. Antipov S. N., Gadzhiyev M. Kh., Tereshonok D. V., Gorbatov S. A., Ivanov I. A., Tikhonov V. N., Tikhonov A. V., Abramov A. G. and Ugryumov A. V., Applied Physics, № 6, 5–11 (2022) [in Russian].
8. Tikhonov V. N., Ivanov I. A., Kryukov A. Ye. and Tikhonov A. V., Applied Physics, № 5, 102–106 (2015) [in Russian].
9. Gorbatov S. A., Ivanov I. A., Tikhonov A. V., Tikhonov V. N. and Shesterikov A. Yu., Instruments And Experimental Techniques, № 1, 155–156 (2021) [in Russian].
10. Antipov S. N., Chepelev V. M., Gadzhiev M. H., Abramov A. G. and Ugryumov A. V., Plasma Physics **49** (5), 407–411 (2023) [in Russian].
11. Bochkarev V. V., Kiyashko N. V. and Obukhov V. P., Harvesting and storage of potatoes, root crops and vegetables: a tutorial. Ussuriysk, FGBOU VO Primorskaya GSKHA, 2015 [in Russian].