

УДК 582.929.4:633.8:632.4:632.9
DOI: 10.36305/2712-7788-2020-4-157-34-41

АНТАГОНИСТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ БИОФУНГИЦИДА «ФИТОСПОРИН – М» В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ НА ИССОПЕ ЛЕКАРСТВЕННОМ (*HYSSOPUS OFFICINALIS* L.)

Ольга Владимировна Иванова, Андрей Андреевич Коростылев

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН,
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт. Никита
E-mail: zaschitanbs@rambler.ru

Приводятся данные по изучению и лечебной перспективности иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis* L.) как ценной эфиромасличной культуры НБС. Определен состав возбудителей инфекций на иссопе. Проведено апробирование нескольких вариантов обработки растений биологическими препаратами, для выявления наиболее эффективного способа защиты иссопа от возбудителей болезней. На культуре иссопа лекарственного (*H. officinalis*) в области ризосферы обнаружены грибные возбудители *Fusarium solani* (Mart.) App. & Wg., стеблевая зона иссопа поражается возбудителями сухой гнили – *Fusarium oxysporum* Schltdl. На верхушке стебля и на листьях доминировали возбудители вертициллезного увядания, грибы рода *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold и *V. dahliae* Kleb. Применение биофунгицида «Фитоспорин – М» оказало существенную эффективность действия относительно грибных возбудителей на иссопе лекарственном. Отмечено снижение степени развития болезни с 24,1% до 4,2%. Количество спор в нативных препаратах из вытяжки тканей пораженных растений иссопа уменьшилось в 15 раз по возбудителям фузариоза (*F. solani*), и в 17 раз по возбудителям вертициллеза (*V. albo-atrum* и *V. dahliae*). Высокая антагонистическая активность по отношению к возбудителям грибных болезней иссопа лекарственного наблюдалась в случае применения композиции из двух препаратов. Установлено, что при совместном применении биофунгицида «Фитоспорин – М» и виталайзера «НВ – 101» количество фиксируемых в тканях пораженных растений спор грибных возбудителей болезней снизилось до нуля.

Ключевые слова: *Hyssopus officinalis* L.; эфиромасличные культуры; биопрепараты; фитопатогены

Введение

Иссоп лекарственный (*Hyssopus officinalis* L.) – полукустарник семейства яснотковые (Lamiaceae) культивируется как лекарственное, эфиромасличное и декоративное растение. Ареал простирается от Пиренейского полуострова до Гималаев в широтном направлении и от южных районов Норвегии до северного побережья Африки – Тунис, Марокко, Алжир (Akbar *et al.*, 2020). В России встречается в европейской части, на Кавказе и Алтае. Иссоп является древнейшим лекарственным растением. По своим лекарственным свойствам иссоп схож с шалфеем лекарственным. Данное растение обладает великолепными противовирусными, антисептическими, обезболивающими, ранозаживляющими, тонизирующими, противовоспалительными и отхаркивающими свойствами. Помогает улучшить обменные процессы в организме, способствует хорошему пищеварению и улучшению аппетита, выводит паразитов из организма (Гребенникова и др., 2017). Оказывает положительное действие при неврозах, стенокардии, хронических колитах, метеоризме и при заболеваниях суставов. Наружно можно применять как настои и отвары при ушибах, для промывания глаз и носоглотки, для полоскания при стоматитах и заболеваний носоглотки (Дунаевская и др., 2018). Кроме того, иссоп является великолепным медоносом (от 40-60 кг/га). Его часто используют для привлечения пчел во время роения. Однако, иссоп популярен не только из-за применения в медицине, а еще из-за широкого применения в парфюмерии,

при изготовлении косметики и даже в качестве пряности для различных блюд (рыба, мясо) и при солении: маслины, оливки, огурцы, помидоры (Барнаулов, 2015).

В результате интродукции иссопа лекарственного в условия Крыма и последующей селекционной работы, сотрудниками Никитского ботанического сада по ряду хозяйственно ценных признаков был выделен сорт Никитский Белый. В культуре к трехлетнему возрасту, он формирует компактный куст высотой 55 см и диаметром 65 см. Стебли его четырехгранные, многочисленные, у основания одревесневшие. Листья длиной 40 мм и шириной 8 мм, с обеих сторон густо опушенные, светло-зеленые, сидячие, линейно-ланцетные, супротивные, цельнокрайние. Растение формирует до 65 цветоносных стеблей. Цветки мелкие, собраны в пазухах листьев ложными полумутовками и образуют в верхней части стебля соцветие типа тирс длиной 5 см. Венчик длиной 8-10 мм, белого цвета. Чашечка трубчато-колокольчатая с пятью заостренными зубцами. Плод – орешек. Семена длиной 3 мм и шириной 1 мм, черного цвета, продолговато-яйцевидные, трехгранные. Масса 1000 семян – 1,2-1,4 г.

В условиях ЮБК начало вегетации отмечается в 1-2 декаде марта. Растения начинают цвести в 3 декаде июня – 1 декаде июля, а массовое цветение приходится на июль. Плодоношение наблюдается во 2 декаде августа – сентябре. Продолжительность цветения составляет 75-80 дней, а период от начала вегетации до созревания семян в среднем занимает 160 дней (Марко и др., 2018).

Для получения эфирного масла надземную массу растений скашивают на высоте 15-20 см от поверхности почвы в фазу начала цветения, когда выход эфирного масла максимальный. Урожайность сырья составляет 113,9 ц/га, сбор эфирного масла – 51,3 кг/га при его массовой доле 0,45% от сырой массы. Основным компонентом эфирного масла является изопинокамфон, содержание которого 71,1%. Кроме того, в составе присутствуют пинокамфон в количестве 2,2%, линалоол – 1,6% и другие компоненты (Гребенникова и др., 2017; Stappen *et al.*, 2015).

Являясь лекарственным растением, *H. officinalis* как и все другие культуры подвержен заражению фитопатогенными микроорганизмами (Ignjatov *et al.*, 2020). Экспертиза заболеваемости является необходимым условием для проведения профилактических мероприятий в борьбе с болезнями. Это имеет особую значимость для ароматических и эфирномасличных культур, которые не могут быть защищены от болезней химическими методами, так как используются для получения эфирных масел, настоек и лекарственных сборов. Альтернативой химическим средствам защиты растений от болезней являются методы органического земледелия, с применением биопрепаратов.

Целью наших исследований являлось изучение на иссопе (*H. officinalis*) схемы защитных мероприятий, включающих биопрепараты для индуцирования иммунного статуса культуры в отношении фитопатогенных инфекций.

В задачи исследований входило: определения видового состава возбудителей болезней на иссопе, выявления степени их вредоносности, а также апробирование нескольких вариантов обработки растений биологическими средствами, для выявления наиболее эффективного способа защиты.

Объекты и методы исследования

На базе лаборатории Ароматических и лекарственных растений в период с 2019 по 2020 год изучали поражаемость болезнями *H. officinalis*. Материалом для исследования являлись пораженные растения иссопа сорта Никитский Белый, проявляющие симптомы полного усыхания куста или увядания листьев и стебля. Анализ изолятов больных растений проводили с использованием общепринятых в фитопатологии методик, отбирая образцы тканей для фитопатологической

экспертизы (Кирай и др., 1974). Определение видового состава грибных возбудителей проводилось по определителям грибов (Билай и др., 1988).

Для изучения антагонистической активности биофунгицидов, а также влияния регуляторов роста в системе защиты иссопа от болезней, был проведен опыт по совместному использованию двух биопрепаратов при обработках культуры в период вегетации. Для исследования использовали биофунгицид «Фитоспорин – М», действующими объектами которого являются эндофитные бактерии вида *Bacillus subtilis*, штамм 26 Д, с титром не менее 1×10^9 КОЕ/мл, и виталайзер «НВ – 101», представляющий собой комплекс питательных веществ и микроэлементов растительного происхождения, способствующий укреплению иммунитета растений и их стрессоустойчивости к неблагоприятным факторам среды.

Культура иссопа выращивалась в открытом грунте; на черноземе, насыпном на коричневые почвы, где в субстрат вносились песчаная и среднесуглинистая смесь; содержание гумуса (%): 2,1 – 4,2; pH: 7,5 – 8,6; мощность гумусированного слоя: 5 – 30 см. В агротехнике опытных участков проводились мероприятия по внесению органических удобрений, поливы, прополки сорняков и рыхление.

Схема эксперимента включала 4 варианта в 4-кратной повторности (повторность – 1 растение):

1. контроль (обработка водой, без биофунгицида и регулятора роста);
2. виталайзер «НВ – 101», концентрация 0,002%, (6 обработок);
3. биофунгицид «Фитоспорин – М», концентрация 0,2%, (6 обработок);
4. смесь: «Фитоспорин – М» и «НВ – 101», (6 обработок).

Все растения, включенные в эксперимент, находились на одинаковом инфекционном фоне, в одинаковых условиях произрастания, одного возраста, сорта и габитуса куста. Обработки проводили на поверхность растений с помощью ручного опрыскивателя Solo 425, в вечерние часы, при температуре воздуха от 25⁰ С и ниже. Препараты наносились в фенологические фазы развития культуры: I обработка – в начальный период листообразования, II – в фазу активного роста листьев, III – в период формирования цветов, IV и V – в фазу активного цветения, VI – начала формирования семян.

Оценку интенсивности проявления болезней в полевых условиях осуществляли в динамике через 7 суток после каждой обработки, по 4-балльной шкале. Степень развития болезней вычисляли по формуле, согласно методике, принятой по регистрационным испытаниям пестицидов (Методические..., 2009):

$$X = \frac{\sum(b \times p) \times 100}{n \times 5}$$

где X – степень развития болезни; б – балл поражения, р – число листьев данного балла, n – общее число учтенных листьев, 4 – высший балл поражения.

В вариантах опыта с использованием микроскопа (Levenhuk 320/D320I) через каждые 3 суток после обработок в тканях иссопа с нативных препаратов, приготовленных из вытяжки патологических тканей пораженных растений, определяли количество инфекционных единиц (по спорам грибов). Полученные данные обрабатывали методами статистического анализа в программе MS Excel.

Результаты и обсуждения

На протяжении периода исследований в результате микроскопирования материала и анализа выделяемой на питательных средах микрофлоры с тканей корня был выделен почвенный грибок *Fusarium solani* (Mart.) App. & Wr. Искусственное заражение иссопа штаммами данных грибов подтвердило их патогенную принадлежность (Кирай и др., 1974).

Установлено, что стеблевая зона иссопа поражается возбудителями сухой гнили – *Fusarium oxysporum* Schltdl, которые активно выделяются с области корневой шейки. Параллельно с ними, высевались возбудители вертициллезного увядания, грибы рода *Verticillium* – *V. albo-atrum* Reinke & Berthold и *V. dahliae* Kleb, которые доминировали по количеству спор при выделениях на верхушке стебля и на листьях (рис. 1).



(A) (B) (C)

Рис. 1 Споры возбудителей болезней на иссопе: макроконидии *Fusarium solani* (A), *Verticillium albo-atrum* (B), *Verticillium dahliae* Kleb (C)

Fig. 1 Spores of pathogens on hyssop: macroconidia *Fusarium solani* (A), *Verticillium albo-atrum* (B), *Verticillium dahliae* Kleb (C)

Совокупность данных патогенов в период вегетации нередко проявлялась молниеносной формой вилта, при которой все листья на кусте бледнеют, скручиваются в трубочку, а затем одновременно поникают. При выкапывании такого растения обнаруживается вялый ослабленный корень, с тонкими придаточными корешками. Растение засыхает без признаков некроза в течение 2–5 дней, листья при этом не опадают. Болезнь распространяется по растению снизу вверх. Источниками инфекции являлись споры фитомикозов, сохраняющиеся в пораженных растительных остатках, семенах и почве.

В контрольном варианте опыта, без защитных обработок развитие болезней в начале эксперимента находилось на уровне 26,7%, а на период окончания опыта достигло 68,5%. Динамика увеличения количества спор и клеток бактерий в тканях больных растений иссопа постоянно нарастала, вследствие интенсивного развития инфекционного процесса (рис. 2).



Рис. 2 Развитие болезней на *Hyssopus officinalis* в контроле культуры, без обработок.

(Оригинальное фото Коростылева А.А.)

Fig. 2 The development of diseases of *Hyssopus officinalis* in the control culture without treatment.
(Original photo by A. Korostylev)

Включение в обработку иссопа виталайзера «НВ – 101» повлекло за собой положительный эффект, который выразился сдерживанием развития заболеваний по сравнению с контролем, снижением количества инфекционных единиц (по спорам грибов): в 2,7 раз по фузариуму, в 4 раза по вертициллезу (табл. 1, 2).

Таблица 1

Динамика снижения инфекционного инокулята *Fusarium* sp.
на иссопе при действии биопрепаратов

Table 1

The dynamics of reduction of the infectious inoculum of *Fusarium* sp.
on hyssop under the action of biologics

№	Варианты опыта Experience options	Количество спор / на см ² зоны просмотра, шт. (среднее значение по 4 повторностям) Number of spores / per cm ² of the viewing area, pcs (average value for 4 repetitions)						Среднее, шт. Average, pcs	Разность с контролем The difference with the control	
	№ обработки № treatment	1	2	3	4	5	6		шт. pcs	%
1	НВ – 101	19,7	20,3	17,3	13,5	11,5	10,0	15,4	-5,6	-26,7
2	Фитоспорин – М Fitosporin – M	15,2	8,5	7,5	7,7	5,3	3,7	8,0	-13,0	-62,0
3	Композиция 2-х препаратов Composition of 2 drugs	13,0	10,2	6,5	4,5	2,2	0,0	6,1	-14,9	-71,1
4	Контроль – без обработок Control – without treatments	14,4	17,7	20,2	23,5	24,2	26,0	21,0	–	–
	НСР ₀₅ LSD ₀₅								5,3	25,3

Более значительный эффект по грибным возбудителям был получен в варианте применения биофунгицида «Фитоспорин – М», при котором количество спор, в тканях пораженных растений по возбудителям фузариоза (*F. solani*) снизилось более чем в 15 раз и вертициллеза – 17 раз, по сравнению с контролем. Степень развития болезни в этом случае с 24,1% снизилась до 4,2%. При этом наблюдалось увеличение вегетативной массы побегов и улучшение декоративности кустов (рис. 3).



Рис. 3 Состояние кустов иссопа после 6-ти обработок в вариантах опыта с использованием смесей «НВ – 101» и биофунгицида «Фитоспорин – М» (средний ряд). (Оригинальное фото Коростылева А.А)

Fig. 3 The state of hyssop bushes after 6 treatments in the experimental variants using mixtures of «НВ – 101» and biofungicide «Fitosporin – M» (middle row). (Original photo by A. Korostylev)

Наилучший результат был достигнут в вариантах опыта с использованием комплекса биопрепаратов «НВ – 101» и «Фитоспорин – М» в рекомендуемых нормах применения. Установлено, что действие биофунгицида совместно с иммуноиндуктором имеет существенный защитный эффект, при котором количество фиксируемых в тканях пораженных растений спор грибных возбудителей болезней снизилось практически до нуля.

Математическая обработка результатов исследования показала, что при уровне достоверности (HCP_{05}) между вариантами опыта и контролем наблюдается существенная разница (табл. 1, 2).

Таблица 2

Динамика снижения инфекционного инокулята *Verticillium* sp.
на иссопе при действии биопрепаратов

Table 2

The dynamics of reduction of the infectious inoculum *Verticillium* sp.
on hyssop under the action of biologics

№	Варианты опыта Experience options	Количество спор / на см ² зоны просмотра, шт. (среднее значение по 4 повторностям) Number of spores / per cm ² of the viewing area, pcs (average value for 4 repetitions)						Среднее, шт. Average, pcs	Разность с контролем The difference with the control	
	№ обработки № treatment	1	2	3	4	5	6		шт. pcs	%
1	НВ – 101	20,2	20,3	16,7	15,2	15,3	14,0	17,0	-3,3	-9,8
2	Фитоспорин – М Fitosporin – M	22,0	18,5	12,7	8,5	4,0	2,5	11,4	-8,9	-43,9
3	Композиция 2-х препаратов Composition of 2 drugs	16,7	12,5	10,3	7,0	2,5	0,0	8,2	-12,1	-59,7
4	Контроль – без обработок Control – without treatments	15,5	16,7	18,2	20,0	23,5	27,7	20,3	–	–
	HCP₀₅ LSD ₀₅								6,9	33,8

По результатам эксперимента стало очевидно, что биофунгицид «Фитоспорин – М», штамм 26 Д, обладает выраженным антагонистическим потенциалом в отношении грибных возбудителей *H. officinalis*. Биопрепарат «НВ – 101» усиливает биоцидные свойства фунгицида. Действующие вещества регулятора роста являются активаторами устойчивости растений к некротрофным фитопатогенам, что способствует индуцированию защитных механизмов, препятствующих непосредственному развитию грибных фитопатогенов в листьях иссопа.

Выводы

1. На культуре иссопа лекарственного (*H. officinalis*) в области ризосферы обнаружены грибные возбудители *Fusarium solani* (Mart.) App. & Wt., стеблевая зона иссопа поражается возбудителями сухой гнили – *Fusarium oxysporum* Schldl. На верхушке стебля и на листьях доминировали возбудители вертициллезного увядания, грибы рода *Verticillium* – *V. albo-atrum* Reinke & Berthold и *V. dahliae* Kleb.

2. Существенная эффективность действия по грибным возбудителям на иссопе была выявлена в варианте применения биофунгицида «Фитоспорин – М». Степень развития болезни с 24,1% опустилась до 4,2%. Количество спор в нативных препаратах из вытяжки тканей пораженных растений иссопа снизилось в 15 раз по возбудителям фузариоза (*F. solani*), и в 17 раз по возбудителям вертициллеза (*V. albo-atrum* и *V. dahliae*).

3. Установлено, что высокая антагонистическая активность биофунгицида «Фитоспорин – М» в защите иссопа от возбудителей грибных болезней проявилась при совместном применении с виталайзером «НВ – 101». Если в начале эксперимента степень развития болезней 28,4%, то в конце опыта – 0%. Количество фиксируемых в тканях пораженных растений спор грибных возбудителей болезней снизилось до нуля.

4. Использование биофунгицида «Фитоспорин – М», действующими объектами которого являются бактерии вида *B. subtilis*, совместно с регулятором роста «НВ – 101» могут быть рекомендованы для защиты иссопа лекарственного (*H. officinalis*) от болезней.

Литература / References

Барнаулов О.Д. Лекарственные свойства пряностей. СПб.: Информ-Навигатор, 2015. 288 с.

[Barnaulov O. D. Medicinal properties of spices. SPb.: Inform-Navigator, 2015. 288 p.]

Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г. и др. Микроорганизмы – возбудители болезней растений / под ред. Билай В.И. Киев: Наукова думка, 1988. 552 с.

[Bilay V.I., Gvozdyak R.I., Skripal I.G. et al. Microorganisms – pathogens of plant diseases / Bilay V.I. (Ed.). Kiev: Naukova Dumka, 1988. 552 p.]

Гребенникова О.А., Палий А.Е., Хлыпенко Л.А., Работягов В.Д. Биологически активные вещества *Hyssopus officinalis* L. // Орбиталь. 2017. № 1. С. 21-28.

[Grebennikova O.A., Paliy A.Y., Khlypenko L.A., Rabotyagov V.D. Biologically active substances of *Hyssopus officinalis* L // Orbital. 2017. 1: 21-28]

Дунаевская Е.В., Хлыпенко Л.А., Работягов В.Д. *Hyssopus officinalis* L. сорта Никитский белый селекции Никитского сада // Перспективы лекарственного растениеводства. Материалы Международной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Алексея Ивановича Шретера (г. Москва, 01-02 ноября 2018 г.). Москва, 2018. С. 270-275.

[Dunaevskaya E.V., Khlypenko L.A., Rabotyagov V.D. *Hyssopus officinalis* L. of Nikitsky belyi variety of the Nikitsky botanical gardens selection // Prospects of medicinal plant science. Materials of the International scientific conference dedicated to the 100th anniversary of the birth of Professor Alexey Ivanovich Schreter (Moscow, November 01-02, 2018). Moscow, 2018: 270-275]

Кидай З., Клемент З., Шоймоши Ф., Вереш И. Методы фитопатологии / Пер. с англ. канд. биол. наук С.В. Васильевой [и др.]; Под ред. и с предисл. д-ра биол. наук, проф. М.В. Горленко. М.: Колос, 1974. 343 с.

[Kiray Z., Klement Z., Solymosy F., Voros J. Methods in plant pathology / Transl. from eng. PhD of biological sciences S.V. Vasilyevoy [et al.]; Edited and prefixed by PhD of biological sciences, prof. M.V. Gorlenko. M.: Kolos, 1974. 343 p.]

Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве / под. ред. Долженко В.И. СПб: ВИЗР, 2009. 378 с.

[Methodical instructions on registration testing fungicides in agriculture / Dolzhenko V.I. (Ed.). SPb: VIZR, 2009, 378 p.]

Марко Н.В., Логвиненко Л.А., Шевчук О.М., Феськов С.А. Аннотированный каталог ароматических и лекарственных растений коллекции Никитского

ботанического сада / под общ. ред., чл.-корр. РАН Плугатаря Ю.В. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2018. 176 с.

[Marko N.V., Logvinenko L.A., Shevchuk O.M., Feskov S.A. Annotated catalog of aromatic and medicinal plants of the collection of the Nikitsky Botanical garden / under the General ed. Plugatar Yu.V. – Simferopol: "ARIAL", 2018. 176 p.]

Akbar S. *Hyssopus officinalis* L. (Lamiaceae). In: Handbook of 200 Medicinal Plants. Springer, Cham, 2020. pp. 1029-1034. https://doi.org/10.1007/978-3-030-16807-0_110.

Ignjatov M., Milošević D., Nikolić Z., Tamindžić G., Stojanović M., Vera Popović, and Žarko Ivanović First Report of *Fusarium proliferatum* as the Causal Agent of Seed Rot of *Hyssopus officinalis* in Serbia. *Plant Disease*, 2020. 104:6, 1864-1864.

Stappen I., Wanner J., Tabanca N., Wedge D.E., Ali A., Kaul V.K., Lal B., Jaitak V., Gochev V.K., Schmidt E., Jirovetz L. Chemical composition and biological activity of essential oils of *Dracocephalum heterophyllum* and *Hyssopus officinalis* from Western Himalaya. *Nat. Prod. Commun.*, 2015. 10 (1): 133-138.

Статья поступила в редакцию 02.11.2020 г.

Ivanova O.V., Korostylev A.A. Antagonistic potential of chemical fertilizers "FITOSPORIN – M" against the pathogens on common hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) // Plant Biology and Horticulture: theory, innovation. 2020. № 4 (157). P. 34-41.

Data on the study and therapeutic prospects of *Hyssopus officinalis* L. as a valuable essential oil culture of the NBS are presented. The composition of infectious agents on hyssop was determined. Several variants of plant treatment with biological preparations were tested to identify the most effective way to protect hyssop from pathogens. The fungal pathogens *Fusarium solani* (Mart.) App. & Wr. were found on the culture of *Hyssopus officinalis* in the rhizosphere, the hyssop stem zone is affected by dry rot pathogens – *Fusarium oxysporum* Schltdl. *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold and *V. dahliae* Kleb were the dominant pathogens of Verticillium wilt on the top of the stem and on the leaves. The use of the biofungicide «Fitosporin – M» had a significant effectiveness against fungal pathogens on hyssop medicinal. Marked reduction in the degree of development of the disease from 24.1 % to 4.2 %. The number of spores in native preparations from extracts of tissues of infected plants of hyssop decreased in 15 times for the pathogens of *Fusarium* (*F. solani*), and 17 times for the agents of verticillata (*V. albo-atrum* and *V. dahliae*). High antagonistic activity in relation to pathogens of fungal diseases of *Hyssopus officinalis* was observed in the case of using a composition of two drugs. It was found that when the biofungicide «Fitosporin – M» and vitalizer «HB – 101» were used together, the number of spores of fungal pathogens fixed in the tissues of affected plants decreased to zero.

Key words: *Hyssopus officinalis* L., essential oil crops, biological products, phytopathogens