

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХИТОЗАНА ПРОТИВ ФОМОЗА (ГАНГРЕНЫ) КАРТОФЕЛЯ ПРИ ХРАНЕНИИ

МОХАММЕД Сабах Раби, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

ЕСЬКОВ Иван Дмитриевич, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

Гангрена картофеля является опасным заболеванием, которое развивается во время хранения и может привести к серьезным потерям урожая. Послеуборочное применение фунгицидов предупреждает массовое распространение возбудителя. Однако устойчивость возбудителя к фунгицидам и обеспокоенность общественности в отношении безопасности пищевых продуктов требуют поиска новых альтернатив фунгицидам, потенциально менее вредных для здоровья человека и окружающей среды. Исследовали противогрибковую активность хитозана в отношении *Phoma exigua* var. *foveata*, анализируя его ингибирующее воздействие на гангрену клубней картофеля. Результаты показали, что рост мицелия и прорастание спор *Ph. exigua* подавлялись обработкой хитозаном, а ингибирующий эффект сильно коррелировал с концентрацией хитозана. Эффективность послеуборочной обработки хитозаном изучали на предмет индуцированной устойчивости к гнили *Ph. exigua* в клубнях двух сортов картофеля (Колобок и Санте). Исследования *in vivo* показали, что обработка хитозаном в концентрации 0,5 или 1 % эффективно влияла на поражение гангреной клубней картофеля, инокулированных суспензией спор *Ph. exigua*. Однако обработка хитозаном в концентрации 1 % вызывала фитотоксичность клубней картофеля. Хитозан усиливал активность пероксидазы, полифенолоксидазы и фенилаланин-аммиак-лиазы в клубнях. Авторы предполагают, что влияние хитозана может быть связано с индуцированной устойчивостью к гнили *Ph. exigua* у картофеля, и использование хитозана может быть эффективным средством при частичной замене синтетических фунгицидов для защиты клубней картофеля при хранении.

Введение. Картофельная гангрена является заболеванием, развивающимся при хранении, которое может привести к серьезным потерям урожая. Болезнетворный гриб (*Phoma* var. *foveata*) способен заразить клубни в почве до сбора урожая, но инфекции остаются скрытыми до позднего периода хранения, когда некоторые картофелины превращаются в гниль [25]. Инокулят также вносится в хранилище на перидерме клубня и в прилипшей почве; в обоих случаях он остается жизнеспособным в течение всего срока хранения [16]. На практике гангрена связана с повреждением клубня, при котором инокулят попадает в верхние ткани картофеля или в более глубокие ткани, где он может инициировать гниение [19]. В России потери урожая картофеля по вине гнили *Ph. exigua* часто превышает 25 % [2, с. 28–31]. О первичном контроле патогенов сообщается послеуборочным применением фунгицидов, таких как тиабендазол. Однако устойчивость патогена к тиабендазолу [21] и обеспокоенность общественности в отношении безопасности пищевых продуктов требуют исследования новых фунгицидов, потенциально менее вредных для здоровья человека и окружающей среды [27]. Хитозан (поли-β-(1→4) N-ацетил-D-глюкозамин) является природным, безопасным и дешевым биополимером, получаемым из хитина, основного компонента клеточных стенок экзоскелета членистоногих и грибов и второго возобновляемого источника углерода после лигноцеллюлозной биомассы [17]. Химический агент представляет собой хитиновую форму с низким содержанием ацетила, в основном состоящую из глюкозамина и 2-амино-2-дезоксид-β-D-глюкозы. Положительный заряд хитозана придает данному полимеру

многочисленные и уникальные физиологические и биологические свойства с большим потенциалом в широком диапазоне применения. Доказано, что хитозан эффективно борется с болезнями различных садоводческих культур, таких как яблоки, морковь, помидоры, столовый виноград, клубника, малина и некоторых других, развивающимися после сбора урожая [12, 20, 22, 23]. Фунгицидная активность хитозана была хорошо установлена в исследованиях *in vitro* и *in vivo* [8]. Уровень ингибирования роста грибов был тесно связан с концентрацией хитозана. Исследования ряда авторов показали, что обработка хитозаном не только эффективно останавливает рост патогенов [6, 10], но также приводит к заметным морфологическим и структурным изменениям и молекулярной дезорганизации грибковых клеток [9]. Хитозан также повышает активность пероксидазы, фенилаланина аммиаза, хитиназы и β-1,3-глюканазы в томатах, клубнике и малине [12]. Целью данного исследования является определение противогрибковой активности и индуцированного влияния обработки хитозаном на устойчивость клубней картофеля к гангрене, вызванной *Phoma exigua* var. *foveate*.

Методика исследований. Клубни сортов Колобок и Санте были выращены в К(Ф)Х «Моисеев», в северной части Правобережья Базарно-Карабулакского района Саратовской области. Картофель традиционно возделывается в данном регионе в хозяйствах различных форм собственности [5]. Клубни разных размеров при отсутствии физических повреждений и инфекционных поражений были упакованы в сетчатые мешки, доставлены в лабораторию и хранились при 16 ± 2 °С. Перед обработкой клубни подвергали





поверхностной дезинфекции 1%-ым гипохлоритом натрия в течение 20 мин, а затем промывали водопроводной водой и сушили на воздухе.

Phoma exigua var. *foveata* выделяли из больных клубней и спор, культивируемых на чашках с картофельно-декстрозным агаром (КДА). Споры патогена были выделены из 2-недельной культуры КДА и суспендированы в 5 мл стерильной дистиллированной воды, содержащей 0,05 % (об./об.) Твина 80. Суспензии были отфильтрованы через четыре слоя стерильной марли для удаления налипшего мицелия. Желаемую концентрацию спор контролировали перед использованием с помощью гемоцитометра.

Изучали хитозан пищевой, производства ООО «Хитозановые технологии» (г. Энгельс). Молекулярная масса 100–200 кДа. Степень дезацетилирования не менее 80 %.

Влияние хитозана на рост мицелия *P. exigua* var. *foveate* оценивали на основании результатов исследования, проводимого по методике [30]. Мицелиальные диски (диаметром 5 мм), полученные из 2-недельной культуры гриба, помещали в центр чашек Петри объемом 90 мм, содержащих 20 мл КДА с хитозаном в концентрации 0; 0,125; 0,25; 0,5 или 1 %, а затем инкубировали при 25 °С в темноте. Рост мицелия определяли путем измерения диаметра колонии после 7 дней инокуляции. Каждую обработку повторяли 3 раза в двукратной повторности.

Для оценки влияния хитозана на прорастание спор *P. exigua* var. *foveate* 50 мкл суспензии спор переносили в пробирки Эппендорфа, содержащие 500 мкл жидкой среды с различными концентрациями хитозана (0; 0,125; 0,25; 0,5 или 1 %). Образцы инкубировали при 25 ± 2 °С в течение 12 ч. Споры считались проросшими, когда зародышевая трубка расширялась как минимум вдвое по длине самой споры [14]. Проросшие споры подсчитывали с использованием гемоцитометра Нойбауэра и световой микроскопии при 40×. Скорость прорастания была измерена для 100 спор. Каждую обработку повторяли 3 раза, и эксперимент повторяли дважды.

Для экспериментов *in vivo* использовали раствор хитозана в концентрации 0; 0,125; 0,25; 0,5 или 1 об. %, растворенный в 0,5 ммоль/л⁻¹ ледяной уксусной кислоты. На середине каждого клубня делали разрез (глубиной 3 мм и шириной 3 мм) с использованием стерильной рассекающей иглы и затем в каждый разрез инокулировали 20 мкл конидиальной суспензии *P. exigua* var. *foveate* (1×10⁶ спор мл⁻¹). После двух часов инокуляции клубни обрабатывали хитозаном в вышеуказанных концентрациях, в качестве контроля использовали стерильную дистиллированную воду. Инокулированные клубни инкубировали в пластиковых коробках (190 мм×157 мм×90 мм) со стерильной водой для поддержания высокой относительной влажности и хранили при комнатной температуре (20±2 °С). Диаметр поражения оценивали после 30 дней инокуляции. Каждую обработку применяли к трем репликатам по

10 клубней. Эксперимент повторяли три раза.

Влияние хитозана на защитные ферменты.

1. *Экстракция неочищенного фермента.* Приблизительно 3 г образцов ткани были взяты на 3–4 мм ниже обработанной стороны картофеля с помощью сверла для пробок из нержавеющей стали через 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6 и 7 дней после обработки хитозаном в концентрации 0,5 %. Каждый образец упаковывали и замораживали в жидком азоте и хранили при –80 °С до экстракции неочищенного фермента. Образцы измельчали с помощью 1%-го поливинилпирролидона с различными буферами для экстракции различных ферментов: 3 мл натрий-фосфатного буфера (50 ммоль/л⁻¹, pH 7,5) для пероксидазы (ПО), 3 мл натрий-фосфатного буфера (0,1 ммоль/л⁻¹, pH 6,4) для полифенолоксидазы (ПФО) и 3 мл 0,05 ммоль/л⁻¹ боратного буфера натрия (pH 8,8; 5 ммоль/л⁻¹ β-меркаптоэтанол) для фенилаланин-аммиак-лиазы (ФАЛ). Образцы центрифугировали (15000 g) при 4 °С в течение 30 минут. Супернатанты использовались в качестве источников неочищенного фермента для оценки ферментативной активности.

2. *Определение защитных ферментов.* Активность ПО определяли по методике [29]. В качестве субстрата использовался гваякол. Абсорбцию измеряли при 470 нм. Активность ПФО определяли по методике [15]. Абсорбцию измеряли при 420 нм. Активность ФАЛ оценивали по методике [11]. Абсорбцию измеряли при 290 нм. Количество белка в пробе определяли по методу [7] с использованием бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта.

Все статистические анализы были выполнены с использованием «CoStat-Statistics», версия 6,45. Для проверки эффекта обработки данные анализировали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Среднее разделение проводилось с использованием метода наименьшего значимого различия.

Результаты исследований. *Влияние хитозана на рост мицелия и прорастание спор Phoma exigua* var. *foveate* *in vitro*. Хитозан в разных концентрациях заметно ингибировал рост мицелия *Ph. exigua* var. *foveate* (рис. 1А). Степень подавления роста мицелия, обработанного хитозаном в концентрации 0,5 и 1 %, составила до 89 и 100 % соответственно.

Прорастание спор *Ph. exigua* var. *foveate* также было значительно ингибировано хитозаном при различных концентрациях, а ингибирующий эффект усиливался с увеличением концентрации (рис. 1Б). Хитозан в концентрации 1 % полностью ингибировал прорастание спор *Ph. exigua* var. *foveate*.

Влияние хитозана на диаметр поражения клубней, инокулированных Ph. exigua var. *foveate*. Обработка хитозаном в концентрации 0; 0,25; 0,5 и 1 % значительно уменьшила поражение клубней картофеля сухой гнилью, инокулированных *Ph. exigua* var. *foveate* (рис. 2). Обработ-



ка уксусной кислотой без хитозана не привела к значительному уменьшению поражения сухой гнилью. Воздействие хитозана на развитие сухой гнили усиливалось с увеличением концентрации от 0,25 до 1 %. Однако обработка хитозаном в концентрации 1 % вызвало фитотоксичность, что выражалось в потемнении кожуры клубней. Обработка хитозаном в концентрации 0,5 % уменьшила диаметр поражения на 57,1 и 62,7 % соответственно у сортов Колобок и Санте.

Влияние хитозана на защитные ферменты. Хитозан индуцировал высокий уровень экспрессии ПО у обоих сортов (рис. 3, А, Г). Увеличение активности ПО после обработки хитозаном было выше у сорта Колобок, чем у сорта Санте. Разница сроков индуцирования наблюдалась через три дня. Максимальная активность ПО появилась через пять дней после обработки хитозаном у сорта Колобок. Однако значительное увеличение уровней ПО наблюдалось после четырех дней обработки у сорта Санте.

Активность ПФО у обоих сортов после обработки хитозаном повышалась. У сорта Колобок реакция характеризовалась сильным повышением активности в течение первых трех дней, оставаясь на высоком уровне до конца экспериментов через семь дней (рис. 3, Б). Напротив, активность всегда оставалась ниже у сорта Санте (рис. 3, Д).

Обработка хитозаном повышала активность ФАЛ у обоих сортов. Разница между сортами в сроках и активности ФАЛ наблюдалась уже через три дня (рис. 3, В, Е). Однако в течение семи дней активность ФАЛ была выше у сорта Колобок, чем у сорта Санте (рис. 3, В, Е). У сорта Колобок на-

ибольшая активности ФАЛ наблюдалось через три дня после обработки хитозаном. В свою очередь у сорта Санте данная реакция была менее выражена, наибольшая активность ФАЛ появилась только через шесть дней (рис. 3, В, Е).

Применение хитозана ингибировало прорастание спор и рост мицелия *Ph. exigua* var. *foveate*. Исследования подтвердили данные о противогрибковой активности хитозана в отношении прорастания спор, удлинения зародышевых трубочек и ограничения роста мицелия патогенов многих растений [6, 10]. Активность хитозана может быть связана с его способностью интерферировать с отрицательно заряженными остатками макромолекул, экспонированными на поверхности грибковых клеток, что приводит к утечке внутриклеточных электролитов и белковых компонентов [6, 18]. Другим объяснением может быть взаимодействие продуктов диффузного гидролиза с ДНК микробов, которое влияет на синтез мРНК и белка [26].

Послеуборочная обработка хитозаном обеспечила значительное подавление гнили *Ph. exigua* var. *foveate* в клубнях. Такое влияние коррелировало с активацией защитных ферментов. Распространение гнили снижалось с увеличением концентрации хитозана, но оптимальная концентрация обработки варьировала в зависимости от плодов и патогенов. Предыдущие исследования показали, что хитозан в концентрации 1 или 2 % был эффективен в снижении *Penicillium expansum* при контролируемом хранении плодов яблони и обработка хитозаном в концентрации

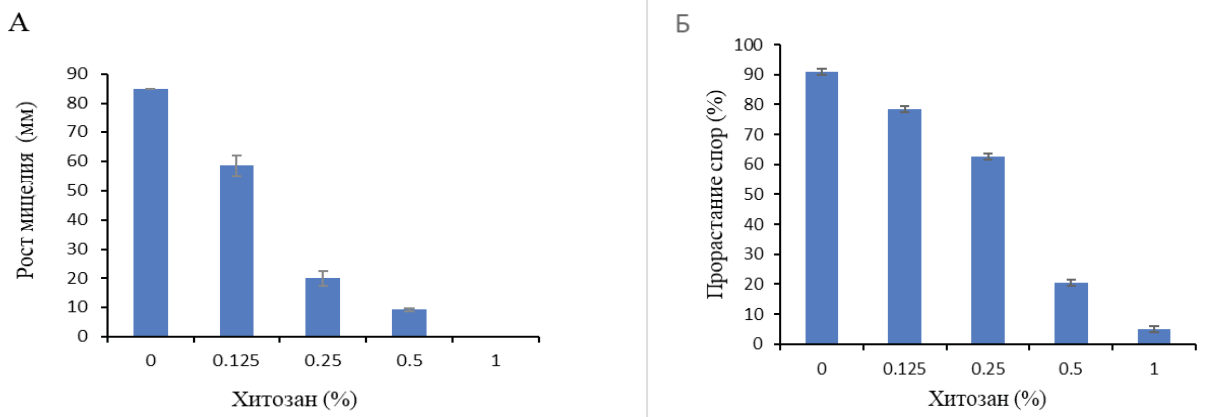


Рис. 1. Влияние хитозана на рост мицелия (А) и прорастание спор *Phoma exigua* var. *foveate* (Б)

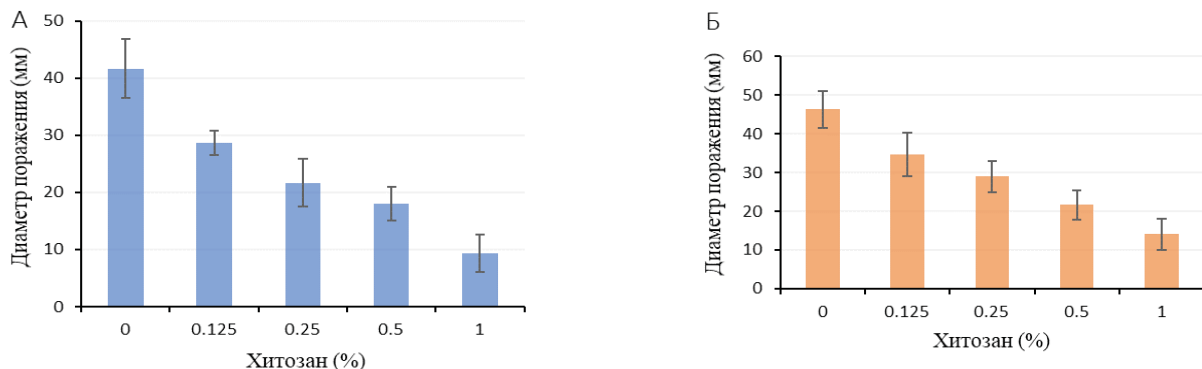


Рис. 2. Влияние хитозана на диаметр поражения клубней, инокулированных *Phoma exigua* var. *foveate* сорт Колобок (А) и сорт Санте (Б)

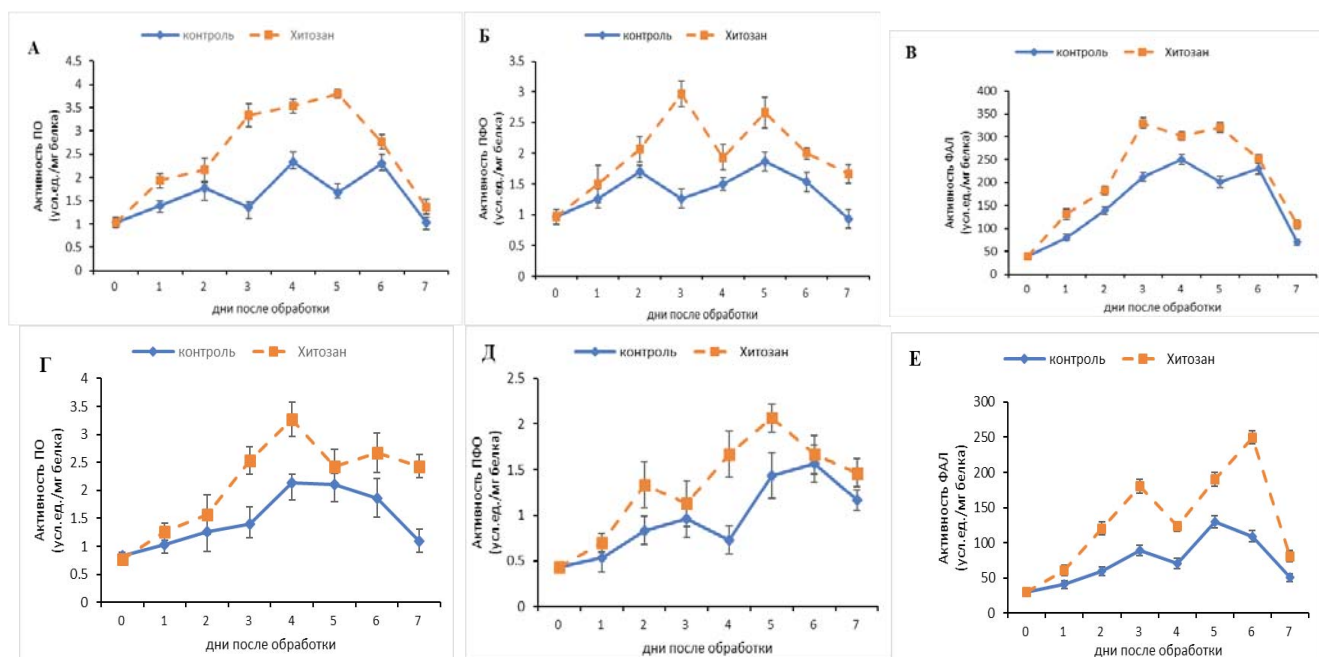


Рис. 3. Влияние хитозана на активность ПО (А, Г); ПФО (Б, Д) и ФАЛ (В, Е) в двух сортах (Колобок А, Б и В; Санте Г, Д и Е)

1 % в дозе до 50 кПа позволила улучшить контроль над гнилью черешни, появляющейся после сбора урожая [24]. Результаты настоящего эксперимента показали, что концентрация 0,5 % была наиболее эффективной концентрацией для снижения распада. Это может быть связано с различиями в чувствительности различных видов к хитозану *in vivo* и патогенезом различных патогенных грибов при взаимодействии патогена и хозяина.

Индукцированные защитные реакции у растений были тесно связаны с ферментативными реакциями. Ферменты участвовали в первой линии защиты и подавляли заболеваемость патогенами. Сообщалось, что хитозан вызывает появление защитных следов. В данном эксперименте обработка хитозаном и инокуляция увеличили активность ПО и ПФО в ткани картофеля. Полученные данные подтверждают сообщения об усилении хитозаном деятельности ПО и ПФО в плодах томатов [12]. ПО участвует в укреплении клеточной стенки и участвует в заключительных этапах биосинтеза лигнина и в сшивании белка клеточной стенки [13]. Полученные результаты хорошо согласуются с имеющимися в литературе данными об активации пероксидаз различных растений, включая картофель, в ответ на патогенез [1, 4]. Пероксидазный комплекс рассматривают как индикатор стрессового состояния растений, а повышение активности пероксидаз связывают с участием их в превращении фенолов в еще более токсичные для патогенов хиноны [3]. Также было обнаружено увеличение активности ФАЛ в инокулированной ткани клубня, обработанной хитозаном. ФАЛ является первым ферментом фенилпропаноидного пути и участвует в биосинтезе фенольных соединений, фитоалексинов и лигнина [28]. Следовательно, повышенная активность ФАЛ может повысить устойчивость растений к болезням.

Заключение. Послеуборочная обработка хитозаном оказалась эффективной для борьбы с

гнилью клубней, инокулированных *Ph. exigua* var. *foveate*. По нашим сведениям, данный отчет об использовании хитозана против картофельной гангрены в хранилище публикуется впервые. Это говорит о том, что хитозан является перспективным в качестве природного фунгицида, заменяющего использование синтетических фунгицидов для защиты фруктов и овощей при хранении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева В.А. Фермент пероксидаза. – М.: Наука, 1988. – 128 с.
2. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков / Б.В. Анисимов [и др.]. – М.: Картофелевод, 2009. – 272 с.
3. Роговин В.В., Пирузян Р.А. Пероксидазы. – М.: Наука, 1977. – 207 с.
4. Савич И.М. Пероксидазы – стрессовые белки растений // Успехи современной биологии. – 1989. – Т. 107. – Вып. 3. – С. 406–417.
5. Чамышев А.В. Агрэкологическое обоснование сроков посадки картофеля в Саратовском Правобережье // Аграрный научный журнал. – 2016. – № 2. – С. 30–33.
6. Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi *in vitro* / J.G. Xu [et al.] // Pesticide Biochemistry and Physiology. – 2006. – Vol. 87. – P. 220–228.
7. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical Biochemistry. – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.
8. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities / S. Bautista-Banis [et al.] // Crop Protection. – 2006. – Vol. 25. – P. 108–118.
9. Chitosan improves development and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea* / E.Ait Barka [et al.] // Plant Cell Report. – 2004. – Vol. 22. – P. 608–614.
10. Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan / N. Ben-Shalom [et al.] // Crop Protection. – 2003. – Vol. 22. – P. 285–290.



11. Effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and phenolic contents in ripening cherimoya fruit / J.S. Assis [et al.] // *Postharvest Biology Technology*. – 2001. – Vol. 23. – P. 33–39.

12. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit / J. Liu [et al.] // *Postharvest Biology and Technology*. – 2007. – Vol. 44. – P. 300–306.

13. Graham M.Y., Graham T.L. Rapid accumulation of anionic peroxidases and phenolic polymers in soybean cotyledon tissues following treatment with *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* wall glucan // *Plant Physiology*. – 1991. – Vol. 97. – P. 1445–1455.

14. Griffin D.H. Spore dormancy and germination // *Fungal Physiology* – M., 1994. – C. 375–398.

15. Jiang A.L., Tian S.P., Xu Y. Effects of controlled atmospheres with high-O₂ or high-CO₂ concentrations on postharvest physiology and storability of “Napoleon” sweet cherry // *Acta Botanica Sinica*. – 2002. – Vol. 44. – P. 925–930.

16. Khan A.A. A study of some factors affecting infection and development of potato gangrene // *Rec. agric. Res. Minist. Agric. Nth. Ire.* – 1967. – № 16. – P. 97–101.

17. Kurita K. Chitin and chitosan: Functional biopolymers from marine crustaceans // *Mar. Biotech.* – 2006. – Vol. 8. – P. 203–226.

18. Leuba J.L. Chitosan and other polyamines: Antifungal activity and interaction with biological membranes // Muzarelli G. *Chitin in Nature and Technology*. – P. Stossel, 1986. – P. 215–222.

19. Malcolmson J.F., Gray E.G. The incidence of gangrene of potatoes caused by *Phoma exigua* in relation to handling and storage // *Ann. appl. Biol.* – 1968. – Vol. 62. – P. 89–101.

20. Physiologic responses and quality attributes of table grapefruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage / X. H. Meng [et al.] // *Food Chemistry*. – 2008. – Vol. 106. – P. 501–508.

21. Population structure and genetic analysis of field resistance to thiabendazole in *Gibberella pulicaris* from potato tuber / A. E. Desjardins [et al.] // *Phytopathology*. – 1993. – Vol. 83. – P. 164–170.

22. Potential use of chitosan in postharvest preservation of fruits and vegetables // *Advances in Chitin and Chitosan* / A.El Ghaouth [et al.]. – 1992a. – P. 440–452.

23. Qing W. [et al.]. Inhibitory effect of chitosan on

growth of the fungal phytopathogen, *Sclerotinia sclerotiorum*, and sclerotinia rot of carrot // *Journal of Integrative Agriculture*. – 2015. – Vol. 14. – P. 691–697.

24. Romanazzi G., Nigro F., Ippolito A. Short hypobaric treatments potentiate the effect of chitosan in reducing storage decay of sweet cherries // *Postharvest Biology and Technology*. – 2003. – Vol. 29. – P. 73–80.

25. Todd J.M., Adam J.W. Potato gangrene: some interconnected sources and factors // *Proceedings of the 4th British Insecticide and Fungicide Conference*. – 1967. – P. 276–284.

26. Transcriptional response of *Saccharomyces cerevisiae* to the plasma membrane-perturbing compound chitosan / A. Zakrzewska [et al.] // *Eukaryotic Cell*. – 2005. – Vol. 4. – P. 703–715.

27. Tripathi P., Dubey N.K. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables // *Postharvest Biology and Technology*. – 2004. – Vol. 32. – P. 235–245.

28. Two phenylalanine ammonia-lyase isoforms are involved in the elicitor-induced response of rice to the fungal pathogen *Magnaporthe oryzae* / S. Giberti [et al.] // *Plant Physiol. J.* – 2012. – Vol. 169. – P. 249–254.

29. Venisse J.S., Gullner G., Brisset M.N. Evidence for the involvement of an oxidative stress in the initiation of infection of pear by *Erwinia amylovora* // *Plant Physiol.* – 2001. – Vol. 125. – P. 2164–2172.

30. Yao H.J., Tian S.P. Effects of a biocontrol agent and methyl jasmonate on postharvest diseases of peach fruit and the possible mechanisms involved // *Journal of Applied Microbiology*. – 2005. – Vol. 98. – P. 941–950.

Мохаммед Сабах Раби, аспирант кафедры «Защита растений и плодовоовощеводство», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.

Еськов Иван Дмитриевич, д-р с.-х. наук, проф., зав. кафедрой «Защита растений и плодовоовощеводство», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.

410012, г. Саратов, Театральная пл., 1.
Тел.: (8452) 23-32-92.

Ключевые слова: хитозан; защитные ферменты; картофель; индукторы болезнестойчивости; картофельная гангрена.

THE USE OF CHITOSAN AGAINST POTATO GANGRENE DURING STORAGE

Mohammed Sabah Rabie, Post-graduate Student of the chair “Plant Protection and Horticulture”, Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.

Eskov Ivan Dmitrievich, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Head of the chair “Plant Protection and Horticulture”, Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.

Keywords: chitosan; defense-enzymes; potato; disease resistance inducers; gangrene.

*Potato gangrene is a very dangerous disease developing during storage and can lead to serious crop losses. The main control of this pathogen is reported by the post-harvest use of fungicides. However, the pathogen resistance to fungicides and public concerns about food safety require the search for new alternatives to fungicides, potentially less harmful to human health and the environment. The antifungal influence of chitosan against *Phoma exigua* var *foveata* and analyzing its inhibitory effect on the gangrene of potato tubers*

*were investigated. The results showed that the growth of the mycelium and the germination of *Phoma* spores were suppressed by chitosan treatment, and the inhibitory effect was strongly correlated with the chitosan concentration. The effectiveness of post-harvest chitosan treatment has been studied for induced resistance to *Phoma* rot in tubers of two potato varieties (Kolobok and Santa). In vivo studies have shown that chitosan treatment at a concentration of 0.5 or 1% effectively combated gangrene potato tubers inoculated with a suspension of *Phoma* spores. However, treatment with chitosan at a concentration of 1% caused phytotoxicity of potato tubers. Chitosan increased the activity of peroxidase, polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia-lyase in tubers. This study suggests that the influence of chitosan may be related to the induced resistance of potato *Phoma* rot, and the use of chitosan may be a promising agent as a natural fungicide for partial replacement of synthetic fungicides to protect potato tubers during storage.*