

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ «ЧЕРНІГІВСЬКА
ПОЛІТЕХНІКА»

**ДІАГНОСТИКА ШКІДНИКІВ
І ЗБУДНИКІВ ХВОРОБ**

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

**до практичних занять
для студентів денної та заочної форми навчання
за освітнім ступенем магістр**

зі спеціальності **205 «Лісове господарство»**

Обговорено і рекомендовано на
засіданні кафедри аграрних
технологій та лісового
господарства
*Протокол №3 від 03 жовтня
2022 року*

Чернігів 2022

Діагностика шкідників і збудників хвороб. Методичні вказівки до практичних занять для студентів денної та заочної форми навчання за освітнім ступенем магістр зі спеціальності 205 лісове господарство Чернігів: НУ «Чернігівська політехніка», 2022. 87с.

Укладачі: Корма О.М., доцент кафедри аграрних технологій та лісового господарства НУ «Чернігівська політехніка», к.б.н.
Тимошенко О.П., доцент кафедри аграрних технологій та лісового господарства НУ «Чернігівська політехніка», к.с.-г.н.

Відповідальний за випуск: Михайло Михайлович Селінний, завідувач кафедри аграрних технологій та лісового господарства НУ «Чернігівська політехніка», к.е.н., доцент

Рецензент: Локоть О.Ю. доцент кафедри аграрних технологій та лісового господарства НУ «Чернігівська політехніка», к.с.-г.н., доцент

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	4
<i>Практичне заняття №1.</i> Основні поняття фітопатології і діагностика хвороб рослин. Типи хвороб деревних порід.	6
<i>Практичне заняття №2.</i> Діагностика хвороб лісу.	13
<i>Практичне заняття №3.</i> Фітопатологічний моніторинг лісових екосистем.	20
<i>Практичне заняття №4.</i> Принципи виявлення і діагностики фітопатогенних грибів. Приготування постійних препаратів фітопатогенних грибів.	24
<i>Практичне заняття №5.</i> Бактерії - збудники хвороб рослин.	30
<i>Практичне заняття №6.</i> Віруси і віроїди - збудники хвороб рослин.	34
<i>Практичне заняття №7.</i> Діагностика нематод - збудників хвороб за морфологічними та морфометричними даними.	40
<i>Практичне заняття №8.</i> Обстеження лісових культур, ґрунту і деревини для виявлення фітонематод. Систематика та класифікація нематод.	55
<i>Практичне заняття №9.</i> Квіткові рослини-паразити. ...	68
<i>Практичне заняття №10.</i> Діагностика шкідливих комах. Техніка приготування макроскопічних та мікроскопічних препаратів кліщів і комах.	73
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА	85

ПЕРЕДМОВА

Діагностика шкідників та збудників хвороб, як складова частина захисту лісу, є одним з провідних предметів професійної підготовки магістрів для лісового господарства. Одними з найважливіших елементів фітосанітарної діагностики лісових насаджень стали оцінка пошкодженості дерев і передбачення можливих втрат приросту та урожаю насіння. На цій основі стає можливим встановлення залежності величини втрат урожаю від рівня заселеності насаджень шкідливими видами або комплексом їх, що дозволяє виробити критерії доцільності захисних заходів. У результаті склалися 3 аспекти обліку і оцінок шкідливості: 1) визначення пошкодженості рослин; 2) використання економічних порогів шкідливості при організації захисних заходів проти окремих видів; 3) оцінка комплексного впливу шкідливих організмів на формування урожаю.

Метою вивчення дисципліни є професійна підготовка магістрів зі спеціальності «Лісове господарство» щодо уміння своєчасно і точно визначати шкідників та збудників хвороб, щоб призначати відповідні заходи боротьби.

Основним завданням курсу «Діагностика шкідників та збудників хвороб» забезпечити засвоєння зовнішніх ознак прояву патологічного процесу хвороб на деревній рослині та пошкоджень, а також – відповідних методів постановки діагнозу.

У результаті вивчення навчальної дисципліни студент повинен

знати: макроскопічні, мікроскопічні, фізичні, хімічні та інші методи для виявлення патогенів головних хвороб деревних і чагарникових рослин, методи обліків пошкоджень, загальні відомості про хвороби та їх збудників, поширення та збереження цих збудників, стадії розвитку інфекційного процесу, методи фітосанітарного обстеження лісів, методи фітопатологічних досліджень.

вміти:

- проводити фітосанітарне обстеження розсадника, культур, молодняків, середньовікових, стиглих та перестійних насаджень;

- здійснити фітосанітарне обстеження деревини на складах і в будівлях;

- проводити фітосанітарне дослідження і за допомогою визначників встановити видовий склад шкідників та збудників хвороб;

- розпізнавати головних збудників хвороб за окремими стадіями їх розвитку та за зовнішніми ознаками їх прояву на деревних рослинах.

Сумлінне виконання практичних занять з дисципліни «Діагностика шкідників і збудників хвороб» сприятиме розвитку допитливості, набуттю навичок самостійного виготовлення препаратів, формуванню вміння аналізувати факти та особливості морфології і анатомії шкідливих тварин, а відповідно і кращій фаховій підготовці майбутніх спеціалістів лісопатологічного профілю.

Для захисту практичного заняття студент повинен відповісти на всі контрольні питання з методичних вказівок та на два питання, за вибором викладача, з лекційного курсу по темі практичного заняття. Для денної форми навчання за кожне практичне заняття студент отримує певну кількість балів з урахуванням максимальної кількості балів. При цьому враховується якість оформлення звіту та повнота відповідей на питання при захисті практичного заняття.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 1

Тема: ОСНОВНІ ПОНЯТТЯ ФІТОПАТОЛОГІЇ І ДІАГНОСТИКИ ХВОРОБ РОСЛИН. ТИПИ ХВОРОБ ДЕРЕВНИХ ПОРІД

Мета роботи: знайомство з основними типами хвороб деревних порід. Вивчення симптомів основних типів інфекційних хвороб деревних порід.

Обладнання та матеріали: деформовані плодики черемхи, жолуді з гниллю, нальотом, листя уражені борошнистою росою, плямистостями, іржею; хвоя сосни або ялини, уражена шютте; деформація пагонів берези («відьомські мітли»); гілки тополі, уражені бурим некрозом; зразки стовбурів, уражених ступінчастим раком; гілки дуба, уражені поперечним раком; зразки стовбурів і гілок в'яза з ураженими судинами (в'янення); зразки серцевини, ураженої гниллю; таблиці, фотографії, в т.ч. в електронному вигляді.

Завдання:

1. Ознайомитися з основними хворобами плодів і насіння; з найбільш поширеними хворобами листя і хвої деревних порід; з хворобами деревини.
2. Знайти в Інтернет джерелах і замалювати в робочому зошиті типи хвороб деревних порід, описаних в роботі.
3. Описати симптоми основних груп інфекційних хвороб: деформація плодів (кишеньки), борошниста роса, плямистості, іржа, шютте, «відьомські мітли», ступінчастий рак, корозійна і деструктивна гниль і т. д.
4. Дати відповіді на контрольні питання.

Теоретична частина.

Збудники хвороб рослин (гриби і псевдогриби, бактерії, фітоплазми, віруси, віроїди, квіткові рослини-паразити) досить численні - описано понад 40000 видів. Вони розрізняються за рівнем організації, систематичним положенням, типом паразитизму та іншими ознаками. Завдяки таким біологічним особливостям, як швидкість розмноження, висока біохімічна активність, генетична мінливість, здатність швидко реагувати на дії несприятливих чинників середовища, можливість тривалий

час перебувати в стані анабіозу і переходити до активної життєдіяльності при сприятливих умовах, фітопатогенні організми широко представлені у всіх біоценозах.

Збудники хвороб рослин характеризуються *патогенністю*, т. б. здатність викликати захворювання рослини, що приводить до зниження її продуктивності чи загибелі, *вірулентністю* – якісною ознакою, яка позначає патогенність дрібних таксонів по відношенню до окремих культур і сортів, *агресивністю* – кількісною ознакою патогенності, що виражає інтенсивність розвитку хвороби. Види фітопатогенів можуть бути представлені фізіологічними расами, що характеризуються ступенем спеціалізації до різних сортів однієї культури.

Хвороба рослини – це складний динамічний процес, в основі якого лежить взаємодія між рослиною-господарем і патогенним організмом або несприятливими факторами навколишнього середовища, в результаті чого відбувається порушення фізіолого-біохімічних процесів обміну речовин, що призводить до зниження продуктивності рослин.

Хвороби рослин підлягають декільком типам класифікацій з метою правильного підходу до діагностики, т. б. встановлення причин їх виникнення, а в подальшому – організації ефективних захисних заходів.

З практичної точки зору хвороби рослин зручно ділити по культурам або групам культур, по органам, які уражаються, виділяти хвороби, які мають схожі ознаки прояву, подібні способи поширення і т.д. Залежно від етіології (причини) всі хвороби рослин поділяються на дві групи: інфекційні та неінфекційні.

Неінфекційні хвороби рослин являють собою своєрідну групу, що принципово відрізняється від хвороб інфекційних.

1. Збудник патологічного процесу відсутній, причина хвороби – переважно абіотичні чинники навколишнього середовища.

2. Одночасний масовий прояв симптомів, в межах дії несприятливого фактора. Чітко видно обмеженість дії несприятливого фактора, і хвороба не поширюється за межі його впливу.

3. Неінфекційні хвороби не передаються від рослини до рослини і розвиток їх можна призупинити, виключивши дію несприятливого чинника зовнішнього середовища.

Наслідки неінфекційних хвороб, також небезпечні, як і інфекційних. Важливим наслідком неінфекційного патологічного процесу є ослаблення рослин. В результаті знижується стійкість до патогенів.

Залежно від причин неінфекційні хвороби можна розділити на кілька груп:

- хвороби, викликані несприятливими кліматичними умовами;
- хвороби, викликані несприятливими ґрунтовими умовами;
- хвороби, викликані несприятливими умовами живлення;
- хвороби, що викликаються механічними і хімічними ушкодженнями;
- ятрогенні хвороби.

У кожної групи свої характерні особливості. Але якщо різні несприятливі абіотичні фактори діють одночасно, шкідливість неінфекційних хвороб посилюється, а симптоми змінюються.

Для встановлення діагнозу хвороби, перш за все, застосовується *візуальний метод дослідження* – проводиться зовнішній огляд рослин.

Симптоми, або зовнішні ознаки прояву, хвороб можуть бути добре видимими неозброєним оком, ледве помітними або прихованими, що проявляються при певних умовах. За сукупністю ознак ставиться діагноз хвороби. Особлива увага приділяється виявленню рослин з певними відхиленнями в рості, розвитку і т. д. На цьому етапі дослідження проводять візуальний порівняльний аналіз здорових і хворих рослин, встановлюють і описують симптоми захворювання.

У практиці діагностики зустрічаються такі випадки, коли зовнішні ознаки двох або кількох хвороб рослин збігаються, хоча причини їх виникнення можуть бути різними. Тому для точного визначення багатьох хвороб застосовують додаткові методи діагностики.

Мікроскопічний метод дозволяє вивчати поверхню рослин і зрізи уражених органів, морфологічні структури і спороношення грибів, ексудати бактерій, вірусні включення, що дає можливість виявити збудника хвороби і визначити характер змін в уражених тканинах.

Для більш повного вивчення збудників хвороб рослин використовують *мікробіологічний (культуральний) метод*. В цьому випадку патогенний організм виділяють в чисту культуру, висівають на штучні поживні середовища та інкубують в термостаті при певній температурі, вологості і експозиції.

Для первинного визначення етіології захворювання, виду приналежності і більш детального вивчення багатьох грибів і бактерій, полегшення виділення їх в чисту культуру, часто застосовується *метод вологих камер*.

При цьому уражені органи рослин з фрагментами прилеглої здорової тканини поміщають в умови, сприятливі для розвитку мікроорганізму, створюючи підвищену вологість і підтримуючи оптимальну температуру (20 ... 26 °C). Закладення досліджуваних органів у вологі камери (чашки Петрі) проводять після їх поверхневої стерилізації (проточною водою, 70% етиловим спиртом, 0,1 ... 2% розчином хлораміну або іншими дезінфікуючими розчинами), щоб виключити розвиток сапротрофних організмів, які випадково потрапили на поверхню рослини. Міцелій, що з'явився, спори грибів, що утворилися або слизові виділення, що містять бактеріальні клітини, в стерильних умовах пересівають на штучні поживні середовища, де і продовжують подальше вивчення. Для виявлення особливостей перебігу хвороби рослини і спеціалізації збудника застосовують штучне зараження здорових чутливих рослин або їх фрагментів чистою культурою патогена.

Для ідентифікації вірусів, фітоплазми, трудновиділяємих грибів і бактерій використовують сучасні інструментальні методи: серологічний, електронно-мікроскопічний, молекулярно-біологічний, біохімічний та інші.

Виділяють кілька основних типів і симптомів хвороб рослин, що викликаються фітопатогенними мікроорганізмами і абіотичними факторами.

В'янення – ураження кореневої і провідної систем рослини-господаря. Збудник локалізується і розвивається в провідних судинах, викликає їх механічну закупорку, пошкодження, а також виділяє токсини і ферменти, які пригнічують рослину. При цьому на листовій поверхні утворюються некротичні плями, листя жовтіє, буріє і опадає, рослина в'яне. Причиною в'янення можуть бути і абіотичні фактори (недолік або надлишок вологи, висока температура і ін.).

Гнилі – розм'якшення і руйнування тканин різних об'ємних органів рослин під впливом метаболітів мікроорганізмів. У деревини, ураженої гниллю, змінюється структура, колір, міцність. Гниль плодів і насіння викликають гриби і бактерії, гниль деревини – гриби.

Плямистості, або некрози характеризуються утворенням на уражених органах рослин плям різної форми, кольору, розміру, що складаються переважно з відмерлих клітин (можуть мати біотичне і абіотичне походження).

Пухлини, або нарости – розростання ураженої тканини або ранової перідерми в результаті гіпертрофії або гіперплазії клітин. Виникають під впливом збудника хвороби або ушкодження абіотичним фактором.

Виразки – локальні ураження різних органів рослини, які характеризуються розм'якшенням тканини і утворенням заглиблень, в яких згодом зазвичай розвивається спороношення гриба.

Нальоти – поява на поверхні уражених органів рослин міцелію або спороношення грибів, різного кольору і консистенції.

Пустули – скупчення спороношення фітопатогена, опуклі утворення прикриті епідермісом або перидермою рослини з подальшим їх розривом.

Муміфікація – всихання, затвердіння і почорніння ураженого органу (насіння, плода) рослини, пронизаного міцелієм збудника захворювання.

Деформація – зміна форми окремих органів або всієї рослини в результаті ураження фітопатогенами або впливу абіотичних факторів. Деформація виявляється у вигляді скручування, морщинистості, кучерявості або ниткоподібності

листя, махровості квіток, потворності плодів, підвищеної гіллястості пагонів і т. д.

Зміна забарвлення – виникає через порушення діяльності хлоропластів, низького вмісту хлорофілів у листках. Виявляється у вигляді хлорозу, мозаїки, рідше антоціанозу (почервоніння). Причинами зміни забарвлення можуть бути погана забезпеченість макро- і мікроелементами, порушення водного режиму або ураження патогенами.

Шютте. Тип хвороби хвойних рослин, що виявляється в пожовтінні або почервонінні хвої і її передчасному обпаданні. Викликається грибами, рідше неінфекційними факторами.

Відьомські мітли. Являють собою численні вкорочені слабкі пагони, які утворюються із сплячих бруньок. Викликають гриби, віруси, фітоплазми, абіотичні фактори.

Рак. Хвороби супроводжуються утворенням на гілках і стовбурах ран у вигляді виразок або наростів. Викликаються грибами, бактеріями, абіотичних факторів.

Контрольні питання для самоперевірки

1. Що таке симптоми прояву хвороби?
2. Назвіть основні типи хвороб насіння, плодів.
3. Які типи хвороб зустрічаються на листках і хвої?
4. Які основні типи гнилей зустрічаються у деревини листяних порід?
5. Дайте характеристику типів іржастих захворювань.
6. Вкажіть причини і особливості інфекційних хвороб рослин.
7. Вкажіть причини і особливості неінфекційних хвороб рослин.

Рекомендована література

1. Дудка И.А. и др. Методы экспериментальной микологии К.: Наукова думка, 1982. 552 с.
2. Журавлев И.И. Диагностика болезней леса. М.: Сельхозиздат, 1962. 194 с.
3. Цилорик А.В., Шевченко С.В. Лісова фітопатологія: підручник для студ. вищих навч. закладів. К.: КВІЦ, 2008. 464 с.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №2

Тема: ДІАГНОСТИКА ХВОРОБ ЛІСУ.

Мета роботи: Ознайомитися з методами діагностики лісових деревних рослин.

Обладнання та матеріали: гербарій і фотографії уражених рослин, фрагменти уражених деревних рослин, лупи, скальпелі, настінні таблиці і визначники.

Завдання:

1. Ознайомитися з основними діагностичними ознаками хвороб деревних рослин.
2. Знайти в Інтернет джерелах і замалювати в робочому зошиті діагностичні ознаки хвороб деревних порід.
3. Описати симптоми, що відповідають певним діагностичним ознакам хвороб сходів, сіянців, молодняків і дорослих деревних порід.
4. Дати відповіді на контрольні питання.

Теоретична частина.

Діагностика хвороб лісу – це вчення про ознаки патологічного стану лісових рослин і методи, за допомогою яких ставиться діагноз хвороб.

Діагноз – це визначення (розпізнавання) хвороби на підставі сукупності ознак (симптомів) патологічного стану рослини, виявлених при дослідженні рослини.

Постановка діагнозу хвороб деревних рослин складається з наступних етапів:

- 1) встановлення типу хвороби, тобто сукупності анатомічних, морфологічних і фізіологічних змін, викликаних захворюванням;
- 2) встановлення характеру захворювання, тобто є воно інфекційним (паразитарним) або неінфекційних (не паразитарним);
- 3) встановлення збудника або причини захворювання;
- 4) призначення необхідних заходів боротьби з хворобами або заходів захисту рослини.

Рішення поставлених завдань при діагностиці хвороб можливо лише за умови ретельного, всебічного і детального

дослідження ураженого або пошкодженого органу і всієї деревної рослини. Тому для правильної постановки діагнозу хвороби рослини необхідно:

1) по можливості точно і достовірно визначити анатомо-морфологічні, фізіолого-біохімічні та інші зміни в клітинах і тканинах ураженого органу або рослини;

2) за сукупністю виявлених змін і ознак захворювання встановити його характер і причину;

3) оцінити серйозність і небезпеку цих змін для життєдіяльності ураженого органу і всієї рослини;

4) визначити інтенсивність і давність даного патологічного стану рослини;

5) виявити основні умови, що сприяють захворюванню і підтримують даний патологічний процес;

6) визначити необхідні заходи щодо зниження шкідливого впливу хвороби на лісові насадження та запропонувати заходи захисту лісу або боротьби з хворобою.

Для отримання достовірних відомостей при діагностиці хвороб деревних рослин зазвичай використовуються наступні методи фітопатологічних досліджень:

1) макроскопічний аналіз, що дозволяє виявити ознаки, які спостерігаються при безпосередньому огляді об'єкта неозброєним оком або за допомогою лупи;

2) мікроскопічний аналіз, що дозволяє виявити ознаки, видимі тільки при сильному збільшенні (гіфи і спороношення грибів, руйнування клітинних стінок і т.д.);

3) мікологічний аналіз, що дозволяє встановити склад мікобіоти і систематичне положення грибів - збудників хвороб.

В особливо важливих і важких випадках застосовуються і інші методи досліджень: біологічний, при якому проводиться штучне зараження рослин для подальшого порівняння симптомів захворювання з тими, які були виявлені у досліджуваної рослини; серологічний, або імунологічний, заснований на застосуванні імунних сироваток і антигенів, і ін.

Діагностика хвороб лісу за зовнішніми макроскопічними ознаками. Дуже важливими при діагностиці хвороб лісу є зовнішні макроскопічні ознаки, які в практиці лісового господарства широко використовуються при визначенні хвороб.

Ці ознаки дозволяють розпізнати хвороби безпосередньо на місці: в лісі, на лісокультурній площі, на розпліднику і т.д.

Рекомендують ділити макроскопічні ознаки хвороб на наступні групи:

- 1) ознаки, характерні для збудника хвороби;
- 2) ознаки прояву патологічного стану у рослини;
- 3) ознаки, що характеризують несприятливі умови зростання або впливу навколишнього середовища на рослини.

Оскільки для кожної вікової групи лісу (дорослих деревостанів, молодняків, сіянців, сходів) спостерігається певна специфіка в складі збудників хвороб, в характері прояву патологічного процесу, доцільно розглядати наведену схему ознак хвороб виходячи з віку деревних порід.

Макроскопічні ознаки хвороб дорослих дерев.

Ознаки, характерні для збудника хвороби. Найбільш характерними діагностичними ознаками для основної групи цих збудників хвороб є їх міцелій і спороношення. У природних умовах міцелій дуже часто зустрічається у вигляді скупчень різної форми і щільності: нальотів, повсті, плівок, шнурів, різоморф, склероціїв, стром.

Спороношення грибів є основою для їх систематизації за таксономічними групами. У зв'язку з мікроскопічними розмірами спор визначення виду можливо тільки при використанні мікроскопа.

Для практичних цілей при діагностуванні хвороб велике значення мають плодові тіла грибів. У багатьох випадках за плодовим тілам можливе визначення не тільки типу хвороби, але і виду збудника. Тому дуже важливо, щоб фітопатологічні обстеження дорослих деревостанів проводилися висококваліфікованими лісопатологами, які добре знають зовнішні ознаки плодових тіл основних збудників хвороб.

Ознаки прояви патологічного стану дерева. Дуже часто у хворих дерев не виявляються утворення, характерні для збудника хвороби (видозміни міцелію, плодові тіла і т.д.). Це може бути пов'язано з прихованим перебігом патологічного процесу (гнилі стовбура), з неінфекційними захворюваннями або ушкодженнями (вплив несприятливих факторів навколишнього середовища, механічні пошкодження і т.д.). В

цьому випадку можна з успіхом користуватися ознаками захворювань, що проявляються на самому дереві.

Всихання крони. Під цим виразом розуміють не тільки відмирання гілок, але і всихання вершини, подрібнення і ненормальне забарвлення листя і хвої, їх всихання і опадання. Причини всихання крони дуже різноманітні, і розібратися в них буває досить важко.

Гнилі в зростаючому дереві зазвичай встановлюються за присутності на ньому плодових тіл або інших грибних утворень, за наявністю дупел, ран, гнилих сучків і т.д.

Складніше розпізнати приховані гнилі, на частку яких припадає до 90% ростучих дерев, уражених дереворуйнівними грибами. Зовнішні ознаки прихованих гнилей слабо помітні і забезпечують достовірність діагнозу лише до 50%.

Достовірні ознаки наявності прихованої гнилі в зростаючому дереві:

Стан кори. У дерев з сильно розвиненою стовбуровою гниллю кора зазвичай більш старого виду, з поздовжніми тріщинами.

Стан стовбура. Дуже часто вказівками на приховану стовбурову гниль є западини, сухобочини, механічні пошкодження і здери кори, деформації, горби і смоляні жовна на стовбурі. Ходи комах завжди вказують на наявність гнилі в стовбурі.

Нахил стовбура вказує зазвичай на обрив коренів або на кореневі гнилі, а *викривлення стовбура* – на наявність стовбурової гнилі.

Стан вершини. Всохла вершина може дати цінні відомості про наявність гнилі в дереві. Якщо всохла вершина ще має цілісні сучки, то вона відмерла недавно і гнилі в ній немає, або вона знаходиться в I стадії і не заходить далеко в стовбур. Якщо вершина шипувата, тобто збереглися лише пеньки сучків, значить вершина відмерла давно, а гниль може бути у 2–3 стадії і сильно просунулася вниз по стовбуру. Якщо всохла вершина почала руйнуватися, то це означає, що відмирання сталося давно, але дерево ще цілком життєздатне.

Стан сучків є важливою діагностичною ознакою при визначенні наявності гнилей. При центральній гнилі стовбура

нижні гілки найчастіше гнилі, при вершинній гнилизні загнивають майже всі сучки.

Важливими діагностичними ознаками гнилей служать: місце розташування гнилі, забарвлення гнилі, чорні смуги, ямчастість і наявність міцільних плівок, порода дерева, у якого виявлено гниль.

Рак. Утворення ракових виразок у хвойних дерев в основному пов'язано з ураженням грибами або з абіотичним впливом. У листяних порід утворення ракових виразок, крім цього, пов'язане з судинними мікозами, які супроводжуються раптовим засиханням листя, побурінням водопровідних судин, витіканням темно-бурої рідини з кори стовбура і гілок в весняно-літній період і присутністю під корою білої в'ялоподібної грибниці.

Ракові виразки, викликані абіотичними факторами (дією морозу, перегріву сонячними променями, опіку вогнем і механічного пошкодження), перерахованих раніше ознак не мають.

У лісових насадженнях нерідко спостерігаються такі явища як вітровали і буреломи, пов'язані з дією вітру. Однак вони дають підстави припускати, що першопричиною є інші обставини. Буреломи і вітровали часто бувають наслідком розвитку гнилі в стовбурах і коренях. При цьому стовбурові гнилі сприяють головним чином бурелому, а кореневі – вітровалу. Наявність в лісі великої кількості бурелому і вітровалу вказує на значне поширення збудників гнилевих хвороб. Іноді вітровал може бути пов'язаний з розривом коренів від розгойдування дерева вітром, а також поверхневим типом кореневих систем та іншими факторами.

Ознаки хвороби пов'язані з несприятливими впливами навколишнього середовища або з незадовільними умовами зростання, іноді важко діагностуються. Причин такого патологічного стану дуже багато і їх можна розділити на дві основні групи: причини, пов'язані з діяльністю людини і причини, пов'язані з явищами природи.

Встановлення причин патологічного стану дерева або деревостану, пов'язаного з явищами природи, часто представляє значні труднощі. Більшість з них не можуть бути з'ясовані

лісопатологами без консультації з фізіологами, ґрунтознавцями, досвідченими лісівниками.

Ознаки хвороб сходів, сіянців і молодняків деревних порід.

Молоді рослини, особливо сходи, дуже чутливі до впливу несприятливих факторів (як біотичних, так і абіотичних) навколишнього середовища. Сходи при захворюваннях і пошкодженнях часто відмирають до того, як з'являються зовнішні ознаки хвороби. У зв'язку з цим ознаки патологічного стану у молодих рослин зазвичай виражені менш чітко, ніж у дорослих дерев.

У молодому віці для деревних порід характерні захворювання листя і хвої. При значному пошкодженні асиміляційного апарату сходи і сіянці зазвичай гинуть, причому грибні утворення виникають значно пізніше вже на відмерлих листках і хвої і дуже часто являють собою утворення сапротрофної фази розвитку збудника хвороби, або утворення інших сапротрофних грибів. Все це іноді призводить до неправильного діагнозу хвороби.

Найбільш інформативними ознаками інфекційних хвороб у молодих рослин є різні морфологічні утворення грибниці у вигляді павутинчастого міцелію, повсті (нальоту), склероціїв, стром різного забарвлення.

Ознак патологічного стану у молодих рослин порівняно мало, і зводяться вони, до наступних: до всихання молодієї рослини і до пожовтіння хвої і листя.

Неінфекційний характер вилягання сходів можна встановити при зовнішньому огляді кореневої шийки. Інфекційний характер вилягання сходів визначається шляхом проведення фітопатологічних і мікроскопічних досліджень.

Контрольні питання для самоперевірки

1. Що таке діагноз і діагностика хвороб лісу?
2. Укажіть етапи постановки діагнозу хвороб деревних рослин.
3. За сукупністю яких змін і ознак захворювання можна встановити його характер і причину?
5. Які методи зазвичай використовуються для фітопатологічних досліджень?
6. Охарактеризуйте діагностику хвороб лісу за зовнішніми макроскопічними ознаками.
7. Назвіть ознаки, характерні для збудника хвороби.
8. Назвіть ознаки хвороб сходів, сіянців і молодняків деревних порід.

Рекомендована література

1. Дудка И.А. и др. Методы экспериментальной микологии К.: Наукова думка, 1982. 552 с.
2. Журавлев И.И. Диагностика болезней леса. М.: Сельхозиздат, 1962. 194 с.
3. Цилорик А.В., Шевченко С.В. Лісова фітопатологія: підручник для студ. вищих навч. закладів. К.: КВІЦ, 2008. 464 с.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 3

Тема: ФІТОПАТОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ ЛІСОВИХ ЕКОСИСТЕМ.

Мета роботи: Ознайомитися з об'єктами уваги дослідників, основними параметрами фітопатологічного моніторингу лісових екосистем.

Обладнання та матеріали: Фотографії лісових екосистем, фрагменти уражених деревних рослин, лупи, скальпелі, таблиці.

Завдання:

1. Під керівництвом викладача провести лісопатологічне обстеження навколо навчального корпусу №1 НУ «Чернігівська політехніка».

2. Заповнити Додаток 4 до Санітарних правил в лісах України «Нумераційна відомість дерев, призначених для вибіркової санітарної рубки».

3. Описати симптоми виявлених патологічних процесів.

4. Дати відповіді на контрольні питання

Теоретична частина.

При проведенні фітопатологічного моніторингу лісових екосистем основними об'єктами уваги дослідників повинні бути наступні:

- конкретні лісові насадження, як структурно-функціональні елементи лісових екосистем;

- санітарний стан дерев в лісових насадженнях;

- комплекс патогенної мікробіоти, що визначає санітарний стан лісових насаджень;

- лісорослинні умови як одні з провідних чинників, що визначають взаємини структурно-функціональних компонентів лісових екосистем;

- походження насаджень (насіннєве або порослеві), що надає помітний вплив на фітосанітарний стан лісових екосистем;

- вікова структура лісових насаджень, що визначає характер, глибину і напрямок фітопатологічного впливу на лісові екосистеми;

- антропогенний вплив на ліси, що збільшують негативний вплив факторів навколишнього середовища на лісові екосистеми.

Лісові насадження, як об'єкти фітопатологічного моніторингу, досліджуються з точки зору їх загального стану. При цьому стан лісових екосистем розглядається як узагальнена характеристика лісонасаджень, що складається з характеристик конкретних груп дерев або ярусів рослинності. Оскільки дерева в лісі диференційовані не тільки по зростанню і розвитку, а й по їх санітарному стану, дуже важливо виявити роль окремих представників патогенної мікобіоти в цих процесах.

Узагальнюючим показником *санітарного стану* деревостанів можуть служити категорії стану дерев, які залежать від комплексу чинників біотичного та абіотичного характеру. Розроблено різні шкали категорій стану дерев, в основу розробки яких покладено візуальні критерії санітарної оцінки стану дерев.

Комплекс фітопатогенних грибів, що є складовою частиною лісових екосистем, взаємодіє з деревними рослинами на всіх етапах їх індивідуального розвитку. Результати такої взаємодії позначаються на функціонуванні та біологічній стійкості лісових насаджень. Тому при проведенні фітопатологічного моніторингу необхідно враховувати всі аспекти впливу патогенної мікобіоти на деревні рослини на всьому протязі їх індивідуального розвитку.

Лісорослинні умови є одним з головних екологічних факторів, що визначають стійке функціонування лісових екосистем. Рівень життєздатності окремих дерев і конкретних насаджень, характер і результативність взаємодії їх з абіотичними і біотичними факторами навколишнього середовища багато в чому визначаються лісорослинними умовами. Тому дуже важливо при моніторингових дослідженнях враховувати лісорослинну складову в фітосанітарний стан лісових насаджень.

Походження дерев (насінневе або порослеві) істотно позначається на загальному стані деревостанів. Відомо, що порослеві деревостани, особливо багато разів повторені, володіють зниженою життєздатністю, успадковують від своїх

батьків багато пороків, наприклад, гниліві хвороби стовбурів і коренів. Тому цей показник є досить інформативним при фітопатологічному моніторингу насаджень.

У зв'язку з тим, що лісові екосистеми в останні роки піддаються істотному антропогенному впливу, дуже важливим параметром фітопатологічного моніторингу стає *ступінь впливу антропогенних навантажень* на фітосанітарний стан лісових насаджень.

Таким чином, основними параметрами фітопатологічного моніторингу лісових екосистем можна назвати наступні:

- комплекс фітопатогенних грибів, що визначають санітарний стан лісових екосистем;
- шкідливість та поширення основних збудників хвороб в лісових насадженнях;
- патологічний стан генеративних органів деревних порід, як основи майбутнього врожаю;
- патологічний стан деревостанів в залежності від лісорослинних умов;
- патологічний стан деревостанів в залежності від їх походження;
- патологічний стан деревостанів в залежності від вікової структури;
- патологічний стан дерев різних категорій стану;
- патологічний стан деревостанів в залежності від ступеня антропогенного впливу на них.

З метою створення постійно діючої системи фітопатологічного моніторингу в лісових насадженнях необхідно регулярно здійснювати нагляд, обстеження, облік і прогноз розвитку інфекційних хвороб.

Для своєчасного виявлення вогнищ хвороб і прийняття необхідних захисних заходів необхідно постійно контролювати фітопатологічний стан лісових насаджень, особливо лісових культур і природних молодяків. Це досягається організацією і ретельним веденням загального і спеціального нагляду за розвитком хвороб.

Контрольні питання для самоперевірки

1. Назвіть основні об'єкти лісового моніторингу.
2. Що є основними параметрами фітопатологічного моніторингу лісових екосистем?
3. Які чинники визначають стійке функціонування лісових екосистем?
4. Охарактеризуйте категорії патологічного стану деревних культур.
5. Що таке детальне обстеження?
6. Назвіть методи детального обстеження.
7. Як визначають зустрічальність і інтенсивність розвитку хвороби?

Рекомендована література

1. Дудка И.А. и др. Методы экспериментальной микологии К.: Наукова думка, 1982. 552 с.
2. Журавлев И.И. Диагностика болезней леса. М.: Сельхозиздат, 1962. 194 с.
3. Цилорик А.В., Шевченко С.В. Лісова фітопатологія: підручник для студ. вищих навч. закладів. К.: КВІЦ, 2008. 464 с.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №4

Тема: ПРИНЦИПИ ВИЯВЛЕННЯ І ДІАГНОСТИКИ ФІТОПАТОГЕННИХ ГРИБІВ. ПРИГОТУВАННЯ ПОСТІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ ФІТОПАТОГЕННИХ ГРИБІВ.

Мета роботи: Ознайомитися з методами діагностики фітопатогенних грибів та методами приготування постійних препаратів патогенів.

Обладнання та матеріали: свіжі або фіксовані зразки рослин, уражених мікологічними хворобами; мікроскопи, предметні і покривні скла, препарувальні голки.

Завдання:

1. Скальпелем або лезом безпечної бритви виріжте з кореневої шийки зі стеблинок, уражених поляганням, кілька шматочків розміром 3-5мм, промийте водою і роздавіть для одержання смужок тканини в 1-2 шари клітин.

2. Забарвіть підготовані об'єкти нанесенням 2-3 крапель 5%-го розчину $KMnO_4$. Через 3-5 хв промийте водою і розгляньте під мікроскопом.

3. Замалуйте в альбомі ділянку клітин з міцелієм гриба при малому і великому збільшенні. Зробіть відповідні написи.

4. Зробіть за допомогою небезпечної бритви або леза кілька тонких поперечних зрізів з уражених ділянок деревини осики і помістіть їх на предметне скло в краплю води. Забарвіть внутрішньодеревинний міцелій і розгляньте під мікроскопом, замалуйте.

5. Підготуйте постійний препарат з найбільш вдалих об'єктів, отриманих на даному лабораторному занятті.

6. Законспекуйте теоретичний матеріал і зробіть висновки про виконану роботу.

Теоретична частина.

Будь-яка діагностика починається з точного аналізу симптомів. При цьому, як правило, дуже бажана загальна оцінка стану рослин в полі.

Одночасно слід записати дані про характер поширення симптомів в посіві (окремі рослини, осередки, смуги або по краях поля). Далі, потрібно знати видовий склад сусідніх

культур, породи уражених культур, розташування поблизу промислових підприємств, погодні умови, особливо температуру, опади тощо. При наявності цих відомостей часто вдається вже на місці визначити приналежність збудника до певної групи (непаразитарні чинники, віруси, бактерії, гриби, шкідники).

Для грибних хвороб особливо типові такі симптоми:

- утворення пустул, споролож, склероціїв, пікнід, міцеліального нальоту або шару на окремих органах рослини;

- зміна забарвлення органів рослини у вигляді плям або смуг (при відсутності пікнід, міцелію та інших структур грибів ці ознаки можуть з'явитися і при непаразитарних, вірусних, бактеріальних захворюваннях, ураженні нематодами);

- зміна забарвлення всіх надземних частин рослини, пов'язане зі зміною забарвлення коренів, основи стебел, провідних пучків (викликається також непаразитарними факторами, вірусами, бактеріями, що живуть в тканинах рослин комахами);

- в'янення або відмирання, пов'язане зі зміною забарвлення коренів або побурінням судин стебла (при появі слизу можлива причина ураження – бактерії);

- сухі гнилі (мокра гнилизна з'являються при ураженні бактеріями або при первинному зараженні грибами і вторинній бактеріальній інфекції).

Якщо причину ураження не вдається однозначно з'ясувати по загальній картині симптомів, слід відібрати одну або кілька рослин з корінням і присталим до них ґрунтом для подальшого дослідження в лабораторії. При доведенні локалізації збудника на певних частинах рослини (наприклад, спорокупки на листках, склероції на стеблах) досить відокремити уражені органи і доставити їх в лабораторію. Надалі намагаються виявити і визначити збудника насамперед безпосередньо на хворій рослині. Тільки якщо це не вдається, необхідно виділити збудника з рослини, отримати його в чистій культурі і визначити по морфології спор, типовим формам зростання і міцеліальних утворень. У сумнівних випадках слід вдатися до перевірки патогенності ізолюваного гриба. Для всіх пов'язаних

з визначенням робіт повністю зберігають своє значення ті ж вимоги до чистоти, що і при роботі з бактеріями.

Препарати фітопатогенних грибів, що зберігаються протягом тривалого часу, служать в першу чергу в якості контрольного матеріалу при ідентифікації.

Можливості використання збудників хвороб, роками культивованих *in vitro*, для штучних заражень дуже обмежені, так як агресивність багатьох збудників слабшає, а це може привести і до втрати патогенності. Явища дегенерації можна уповільнити шляхом регулярних пересівань (при чергуванні певних поживних середовищ), культури на природних субстратах або під шаром парафіну та масла і зберігання при 10-15 °С в пилонепроникних шафах. У більшості випадків при проведенні масових дослідів доцільно вдаватися до свіжоізолізованих збудників. І все ж в практиці захисту рослин для полегшення діагностики зручніше мати точно визначений контрольний матеріал. Нижче описані деякі прості способи приготування постійних препаратів.

Сухі препарати уражених частин рослин. Якщо уражений рослинний матеріал з плодовими тілами або спорокупками патогенів потрібно зберегти на тривалий час, то для іржастих і сажкових грибів, збудників справжніх борошнистих рос з клейстотеціями і деяких хвороб кори дерев (види *Valsa*) рекомендується висушування. Уражений матеріал добре висушують на повітрі і потім зберігають у етикетованих закритих судинах, наприклад скляних банках з кришками.

В якості контрольного матеріалу може також служити гербарій з рослин з типовими симптомами урження. Частини рослин по можливості відразу після збору прокладають листами фільтрувального паперу, а потім за допомогою вузьких смужок клейкої стрічки наклеюють на картон. При цьому слід закріплювати всі наявні органи гриба. Напис має включати назву рослини-господаря і збудника хвороби, місце і рік збору. З такого гербарію деякі гриби можна ізолювати або визначати протягом ряду років.

Препарати уражених частин рослин, фіксовані в рідині. Частини рослин, що не містять хлорофілу, наприклад коріння, бульби картоплі, коренеплоди буряка, плоди та ін., після

очищення поміщають в 2–5% -ий розчин формаліну (20–50 мл торгового препарату на 100 мл дистильованої води). При помутнінні розчин через кілька днів можна змінити. Щоб зберегти тонкостінні органи грибів, наприклад конідієносці збудників несправжніх борошнистих рос, частини рослин поміщають в 40% -ий спирт, який також можна через кілька днів змінити. При більш високій концентрації спирту органи грибів зневоднюються і деформуються.

Щоб досить чітко зберегти симптоми ураження на хлорофілістких частинах рослин, використовують обробку сірчаною кислотою міддю. Як приклад можна привести три рецепта.

1. Частини рослин на 24 год. поміщають в 0,5% -ий розчин CuSO_4 і потім переносять в суміш з 800 мл. дистильованої води, 100 мл. 1% -ої CuSO_4 і 100 мл. технічно насиченої H_2SO_4 .

2. Частини рослин поміщають на 24 год. в 5% -ий розчин CuSO_4 , потім промивають у проточній воді або при багаторазовій зміні води до тих пір, поки вона не стане чистою, і переносять в 5% -ий розчин формаліну.

3. Частини рослин поміщають в киплячий розчин з однієї частини крижаної оцтової кислоти (насиченої кристалами ацетату міді) і чотирьох частин води і кип'ятять, поки ацетат міді витіснить хлорофіл в клітинах. Після цього матеріал можна зберігати в 5% -ому формаліні або 70% -ому спирті.

Зберігання спор іржавих і сажкових грибів. Уредо-, телейто- і ецідіоспори іржавих грибів, а також сажкові спори можна без особливих труднощів тривалий час зберігати на сухому матеріалі, хоча при цьому вони втрачають життєздатність. Однак при багаторічному утриманні в вакуумі здатність до проростання і зараження не слабшає, тому вакуум дуже широко практикується для зберігання уредоспор іржавих грибів зернових культур. Спори струшують з уражених рослин на пергаментний папір, тонким акварельним пензликом очищають від домішок і висушують 1–2 дня над парами 35% -ої сірчаної кислоти. Потім ними заповнюють пробірку-ампулу поперечним діаметром близько 8 мм, за допомогою вакуум-насоса видаляють повітря і запаюють. При зберіганні пробірок в холодильнику при 3–5 °С здатність спор до проростання і зараження не губиться понад 10 років.

Прості постійні препарати. Щоб зберегти на тривалий час в якості наочного посібника окремі органи гриба (спори, плодове тіла, особливі утворення міцелію) або зрізи тканин, можна приготувати постійні мікроскопічні препарати. У найпростішому випадку для цього отримують звичайний препарат, але не в воді, а в розчині Аманна (20 г молочної кислоти, 40 г гліцерину, 20 г фенолу і 20 мл. дистильованої води) і по краях покривають його безбарвним лаком для нігтів.

Хорошим фіксуєчим матеріалом служить також лактофенол. Препарат поміщають в 10% -ий розчин КОН на предметному склі і освітлюють при обережному нагріванні, потім ретельно промивають водою і забарвлюють лактофенол-бавовняною синню. Через 5–10 хв. фарбу видаляють чистим лактофенолом і препарат запаюють безбарвним лаком по краях покривного скла.

Прості постійні препарати отримують і з використанням гліцерин-желатину. Шматочок студенистого гліцерин-желатину поміщають на предметне скло і проносять над слабким полум'ям пальника, потім поміщають об'єкт і обережно накривають зігрітим покривним склом. Цей процес вимагає навики, так як в препараті легко утворюються бульбашки повітря, які перед нанесенням лаку необхідно видалити слабким нагріванням і переміщенням покривного скла.

При використанні постійних мікроскопічних препаратів для порівнянь слід враховувати, що внаслідок втрати води тонкостінні об'єкти згодом можуть більш-менш сильно деформуватися.

Контрольні питання для самоперевірки

1. Назвіть особливо типові симптоми для грибних хвороб.
2. Як виготовляються сухі препарати уражених частин рослин?
3. Опишіть порядок приготування препаратів уражених частин рослин, фіксованих в рідині.
4. Назвіть приклади рецептів для чіткого зберігання симптомів ураження на хлорофілістких частинах рослин на основі сірчаноокислої міді.
5. Назвіть правила зберігання спор іржастих і сажкових грибів.
6. Як приготувати прості постійні препарати?

Рекомендована література

1. Дудка И.А. и др. Методы экспериментальной микологии К.: Наукова думка, 1982. 552 с.
2. Журавлев И.И. Диагностика болезней леса. М.: Сельхозиздат, 1962. 194 с.
3. Цилорик А.В., Шевченко С.В. Лісова фітопатологія: підручник для студ. вищих навч. закладів. К.: КВІЦ, 2008. 464 с.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 5

Тема: БАКТЕРІЇ - ЗБУДНИКИ ХВОРОБ РОСЛИН.

Мета роботи: визначити і описати типи ураження рослин, що викликаються бактеріями. Ознайомитися з типами бактеріальних хвороб, провести мікроскопіювання уражених тканин або бактеріальних колоній, виявити бактерії під мікроскопом і замалювати їх.

Обладнання та матеріали: свіжі або фіксовані зразки рослин, уражених бактеріальними хворобами (кореневого раку, мокрої бактеріальної гнилі); чисті культури бактерій; мікроскопи, предметні і покривні скельця, препарувальні голки.

Завдання:

1. Ознайомитися з основними симптомами хвороб, що викликаються фітопатогенними бактеріями.

2. Знайти в Інтернет джерелах і замалювати в робочому зошиті симптоми 3-х бактеріальних хвороб деревних порід із зазначенням способів їх збереження і поширення.

3. Підтвердити бактеріальну природу захворювання методом вологої камери і мікроскопічним методом. На ураженому бактеріями свіжому листі, при візуальному огляді виявляються маслянисті жовтуваті або коричневі плями. На поміщених у вологу камеру листках утворюються краплі ексудату, що представляють собою скупчення бактерій. При зменшенні вологості плями підсихають і покриваються більшою скоринкою. Засохла тканина може випадати. Для виявлення бактерій вирізати шматочок ураженої тканини, помістити на предметне скло в краплю води, накрити покривним склом. По колу зрізу тканини з'являється світла облямівка, яка швидко розростається, перетворюючись в дрібнозернисту масу. Під мікроскопом при малому збільшенні видно темні ділянки, заповнені бактеріями, а при великому – рухливі бактерії. Описати колір, форму, консистенцію, розмір бактеріальних колоній на штучних поживних середовищах.

4. Дати відповіді на контрольні питання.

Теоретична частина.

Фітопатогенні бактерії – одноклітинні прокаріотні безхлорофільні організми, з осмотичним типом харчування. Є факультативними паразитами. Переважна кількість бактерій, що вражають рослини відноситься до родів *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Clavibacter*, *Bacillus*. Більшість з них грамнегативні, мають паличкоподібну форму, 0,5 ... 4,5 мкм в довжину і 0,3 ... 0,6 мкм в ширину, рухливі за рахунок джгутиків. Розмноження відбувається простим поділом клітини на дві частини приблизно через кожні 20 ... 30 хвилин, що забезпечує потенційну можливість швидкої колонізації рослин.

Бактерії мають клітинну стінку, яка у вологих умовах розбухає, ослизнюється і захищає бактеріальну клітину від зовнішніх впливів. До клітинної стінки щільно прилягає цитоплазматична мембрана, що складається з подвійного шару ліпідів і білка. Вона грає роль осмотичного бар'єру бактеріальної клітини. Під цитоплазматичною мембраною знаходиться цитоплазма, що складається з води, білків, жирів, вуглеводів, мінеральних сполук та інших речовин і містить внутрішні структури бактеріальної клітини (нуклеоїд, мезосоми, рибосоми та ін.).

За сучасною систематикою актиноміцети (фітоплазми) відносяться до дробянок (бактерій). На відміну від вірусів і віроїдів, актиноміцети містять два типи нуклеїнових кислот - ДНК і РНК. Вони поліморфні, оточені мембраною, мають сферичну, еліпсоїдну або неправильну форми діаметром 25 ... 1000 нм, концентруються в елементах флоєми хворих рослин і цитоплазмі клітин. Ряд хвороб, які раніше вважалися вірусними, в даний час відносять до фітоплазменних. Визначають фітоплазмоси за зовнішніми ознаками, реакції на антибіотики тетрациклінового ряду, за допомогою електронної мікроскопії, індикаторів, серологічним методом і молекулярно-генетичним методами. Актиноміцети є важливими ґрунтоутворювачами, можуть бути продуцентами антибіотиків, деякі з них – фітопатогени.

Діагностику бактеріальних захворювань проводять по візуальному аналізу симптомів, мікроскопічним, мікробіологічними, серологічним, біохімічним методами,

визначаючи характерні риси патогенних штамів. Виділення фітопатогенів в чисту культуру дозволяє визначати їх видову приналежність, а штучне зараження здорових рослин з подальшою реізоляцією збудника (тріада Коха) – підтвердити правильність діагнозу і вивчити динаміку розвитку хвороби при різних зовнішніх умовах.

Симптоми деяких бактеріозів настільки характерні, що по ним можна визначити захворювання. Якщо ж зовнішнього огляду недостатньо, то необхідно провести більш детальний аналіз уражених рослин.

Бактеріози за симптомами прояви поділяються на дві групи: загальні, коли відбуваються патологічні зміни в усіх частинах рослини внаслідок ураження кореневої системи або судин, і місцеві, які обмежуються ураженням окремих органів рослин. Бактеріози проявляються у вигляді в'янення, гнилей, некрозів (опіків), наростів, камедетечій.

Цінною діагностичною ознакою хвороби є поява у вологих умовах на уражених органах рослин крапель рідини або слизу (бактеріальний ексудат).

М'які (мокрі) бактеріальні гнилі можуть вражати всю рослину або окремі її органи і їх ділянки. Як правило такий процес супроводжуються різким запахом.

Некрози – відмирання окремих ділянок тканин або органів рослин. Некроз паренхімних клітин проявляється у вигляді плямистостей на листках, плодах, часто супроводжується камедетечею або слизетечею. Утворення бактеріальної плямистості проходить в кілька етапів: поява маслянистої плями (більш світлої або темної, ніж здорова тканина); некроз тканини (пляма набуває коричневий, бурий, чорний колір); іноді випадання відмерлих ділянок рослинної тканини.

Опіками називають хвороби з великими некрозами, в результаті чого відбувається потемніння і відмирання окремих органів або тканин рослин. Наприклад, при ураженні бактеріальним опіком квіти засихають, листя і пагони чорніють, в'януть і покриваються краплями ексудату. У дерев опік кори викликає відмирання окремих її ділянок з виділенням слизу (опік вишні, черешні – карантинне захворювання).

Нарости, або пухлини, бувають ракові, коли вони утворюються внаслідок посиленого ділення клітин і являють собою тканину, що розрослася, всередині якої немає порожнин (рак коренів плодкових культур), і туберкульозні, всередині яких є порожнини (туберкульоз коренеплодів).

Контрольні питання для самоперевірки

1. Дайте характеристику фітопатогенних бактерій.
2. Назвіть основні джерела збереження і поширення бактерій.
3. Перерахуйте симптоми бактеріозів рослин.
4. Чим обумовлені фітопатогенні властивості бактерій?
5. Як відбувається зараження рослин бактеріями?
6. Які роди бактерій є збудниками хвороб рослин?
7. Як проводиться діагностика бактеріальних хвороб рослин?
8. Що утворюється у вологих умовах на поверхні рослин, уражених бактеріозами?
9. Охарактеризуйте фітоплазми як збудників хвороб рослин.
- 10 Назвіть симптоми фітоплазменних хвороб рослин.

Рекомендована література

1. Билай В. И., Гвоздяк Р. И., Скрипаль И. Г. Микроорганизмы – возбудители болезней растений. К.: Наукова думка, 1988. 552с.
2. Дудка И. А. и др. Методы экспериментальной микологии К.: Наукова думка, 1982. 552 с.
3. Журавлев И. И. Диагностика болезней леса. М.: Сельхозиздат, 1962. 194 с.
4. Цилюрик А. В., Шевченко С. В. Лісова фітопатологія: підручник для студ. вищих навч. закладів. К.: КВІЦ, 2008. 464 с.
5. Чумакова А. Е., Минкевич И. И., Власов Ю. И., Гаврилова Е. А. Основные методы фитопатологических исследований. М.: Колос, 1974. 190с.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 6

Тема: ВІРУСИ І ВІРОЇДИ – ЗБУДНИКИ ХВОРОБ РОСЛИН.

Мета роботи: визначити і описати типи ураження рослин, що викликаються вірусами і віроїдами. Ознайомитися з типами вірусних і віроїдних хвороб; провести діагностику вірусних хвороб серологічним методом.

Обладнання та матеріали: гербарій рослин з симптомами мозаїки листя (троянди, малини, яблуні), скручування листя, реверсії смородини; свіжі здорові і хворі листя з ознаками зморшкуватості, скручування, мозаїки; набір для серодіагностики: інфіковані вірусами листя рослин, діагностична сироватка, контрольна сироватка (нормальна), стабілізуючий буфер, пінцети (або порцелянові ступки з маточками), марля, предметні скельця, піпетки, голки для перемішування, абразив, ножиці, марля, предметні скла.

Завдання:

1. Ознайомитися з основними симптомами, що викликаються вірусами.
2. Знайти в Інтернет джерелах і замалювати в робочому зошиті симптоми 4-х вірусних і віроїдних хвороб деревних і декоративних рослин із зазначенням способів їх збереження і поширення.
3. Ознайомитися і засвоїти методику проведення діагностики вірусної хвороби серологічним методом.
4. Дати відповіді на контрольні питання

Теоретична частина.

Віруси – група облігатних внутрішньоклітинних паразитів, що характеризуються ультрамікроскопічними розмірами, відсутністю клітинної будови, прохідністю через бактеріальні фільтри і розмноженням тільки в клітинах живих організмів, в т. ч. і рослин. Вони різноманітні за формою (паличкоподібні, ниткоподібні, сферичні, бацилоподібні), складаються з одиночної або подвійної нитки нуклеїнової кислоти (РНК, рідше ДНК), оточеної білковою оболонкою (капсидом). Одним з властивостей ряду смачних частинок (віріонів) є їх здатність

утворювати включення (кристали Іванівського) в уражених клітинах рослин. Поширюються фітопатогенні віруси від рослини до рослини контактено, а також за допомогою різних переносників (комах, кліщів, зооспор грибів, нематод, поветицею).

У вірусологічній практиці використовуються методи діагностики: візуальний, серологічний, індикаторний, молекулярно-генетичний (ПЛР), електронно-мікроскопічний, а також методи, засновані на зміні хімічного складу рослин і знаходженні в їх тканинах включень вірусного походження.

Субмікроскопічні неклітинні організми, подібні вірусам, які позбавлені капсида і складаються тільки з нуклеїнової кислоти (РНК) називаються віроїди, а викликані ними хвороби – віроїдними.

Діагностика вірусних хвороб серологічним методом заснована на властивостях чужорідного білка давати специфічні реакції з білками крові тварин. При введенні білкового комплексу вірусів (антигену) в кров тварин (кролика, морської свинки та ін.) в ній у великій кількості утворюються специфічні білкові частки (антитіла), здатні зв'язувати чужорідний білок і переводити його в нешкідливий для організму стан (захисна реакція) з випаданням в результаті реакції осаду (серума). Оброблена сироватка крові тварини, якій був введений антиген, служить діагностичним реактивом для виявлення цього або близькоспорідненого йому білка вірусу в клітинному соку досліджуваної рослини. Однією з різновидів серологічного методу для діагностики вірусних хвороб рослин є крапельний метод.

Першу вказівку на вірусну етіологію захворювання дає візуальне макроскопічне обстеження рослин в посівах (насадженнях) на наявність зовнішніх симптомів.

Однак лише в небагатьох випадках симптоми бувають настільки специфічні, що дозволяють зробити достовірний висновок про вірус – збудника хвороби. Різні віруси викликають іноді однорідні або патологічні прояви, які мало різняться, і навпаки, одні і ті ж віруси можуть бути причиною різноманітних симптомів на різних видах рослин. Часто зустрічається також змішане зараження двома і більше вірусами.

Щоб застосовувати заходи боротьби, необхідні, як правило, точні дані про віруси, що інфікували рослини. Крім того, існують патологічні ознаки невірусної природи, які можуть бути прийняті за симптоми вірусних хвороб.

Перша візуальна оцінка хворої рослини повинна супроводжуватися докладним дослідженням для виявлення викликаних вірусами зовнішніх і внутрішніх морфологічних змін, а потім застосуванням методів прямого виявлення вірусів.

Вибір методу визначається поставленим завданням, його достовірністю і швидкістю, а також наявністю відповідного обладнання. Тому нижче наведені методи, які можна застосовувати не тільки в лабораторіях спеціально обладнаних для вірусологічних робіт. Методи, які потребують електронного мікроскопа і ультрацентрифуги, виключені.

Загальні вказівки з відбору зразків дійсні і щодо проб для діагностики вірусів, але доповнюються деякими специфічними особливостями.

1) Як правило, крім зовні хворих рослин, що мають симптоми, в дослідження включають зовні здорові, безсимптомні рослини того ж виду; це дозволяє уникнути помилкових висновків. У хворих рослин досліджують як уражені, так і безсимптомні частини.

2) Якщо в момент відбору зразків лабораторія не має необхідних інструментів, хімікатів, індикаторних рослин або діагностичних сироваток, потрібно забезпечити короткострокове або більш тривале зберігання відібраних проб.

Короткострокове зберігання можливо в холодильнику при +4 °С, рослини закладають в поліетиленових пакетах для захисту від висихання. Для тривалого зберігання матеріал може бути глибоко заморожений, проте слід мати на увазі, що не всі віруси при цьому зберігають інфекційність. Щадні умови консервації забезпечує висушування над хлористим кальцієм. У чашки Петрі діаметром 15 см вноситься хлористий кальцій, зверху накладається шар марлі, на який розкладають шматочки листя без великих жилок. Чашки поміщають в холодильник. Для висушування над хлористим кальцієм придатний також ексікатор.

3) Якщо вихідного матеріалу для дослідження недостатньо, слід провести перезараження відповідних рослин-господарів.

4) Щоб виключити ймовірність сторонньої інфекції, особливо високоінфекційними вірусами, які іноді легко переносяться при контакті, необхідно ретельно дезінфікувати ґрунт для вирощування рослин, робочий інструмент і руки.

Дезінфекцію ґрунту проводять в картоплезапарнику, витримуючи його 2 год. при 100-120 °С. Невеликі кількості ґрунту можна стерилізувати в автоклаві. Гончарні горщики витримують 3 год. в запарнику, 2 год. в сушильній шафі при 120 °С або ж 24 год. в 2% -ому розчині формаліну; в останньому випадку попередньо необхідно видалити присталу землю, а потім горщики провітрити протягом 3 днів до зникнення запаху формаліну.

Порцелянові ступки і маточки очищують концентрованою соляною кислотою (в гумових рукавичках!), потім ретельно промивають водою (в кінці – дистильованою) і витримують в сушильній шафі 30 хв. при 180 °С або 2 год. при 120 °С.

Скляний посуд ретельно обмивають мильним розчином, потім водопровідною і дистильованою водою і витримують 2 год. в сушильній шафі при 120 °С.

Скляні предмети для серологічних робіт занурюють на 24 год. в хромпик (концентрована сірчана кислота + надлишок біхромату калію в порошок) або розведену соляну кислоту, кип'ятять 20 хв. в дистильованій воді, промивають дистильованою водою і висушують 2 год. в сушильній шафі при 120°С. Предметні скла після кип'ятіння обпалюють в спирті.

Для дезінфекції рук придатна суміш 5 частин тринатрійфосфату, 20 частин мильної стружки і 100 частин води, яку уварюють до напіврідкого стану. Хорошу дезінфекцію забезпечують також медичні засоби.

На практичних заняттях студенти розглядають уражені хворобами рослини, ділять їх на групи за типами ураження і проводять діагностику.

Мозаїка характеризується нерівномірним забарвленням уражених органів, при якій ділянки з природним зеленим забарвленням чергуються з більш світлими, позбавленими

хлорофілу, або, навпаки, хлоротичними кільцями, лініями, іншим малюнком. Мозаїчне забарвлення добре видно на просвіт або на тлі білого паперу.

Зморшкуватість виникає внаслідок затримки росту одних тканин і нормального розвитку інших. При зморшкуватій мозаїці на листках жилки листа затримуються в рості, а м'якоть листа продовжує розвиватися, розмір листка зменшується.

Під впливом вірусів можуть відбуватися скручування, ниткоподібність, папоротеподібність, подрібнення або порушення зубчастості листових пластинок. Для деяких вірусних хвороб характерні некротичні плями на листі, стеблах і черешках. Ці симптоми проявляються самостійно або в комплексі з мозаїкою і пригніченням росту.

Для проведення серодіагностики листя досліджуваної рослини кладуть в марлю і за допомогою затискаючого пінцета видавлюють сік (антиген) або його отримують розтиранням зразків в ступці з подальшою фільтрацією через подвійний шар марлі. На чисті предметні скельця наносять краплю нормальної (контрольної) сироватки і краплю імунної сироватки, специфічної стосовно того вірусу, на присутність якого в рослині проводиться аналіз. Поруч з краплями сироватки наносять краплі антигена, змішують їх і спостерігають за реакцією. Контрольна сироватка при змішуванні з антигеном залишається без змін. У краплі імунної сироватки з антигеном через 1 ... 3 хвилини з'являються згустки (білий пластівчастий осад). Така реакція є позитивною, т. б. досліджувана рослина містить антиген вірусу, на присутність якого проводився аналіз.

Контрольні питання для самоперевірки

1. Охарактеризуйте віруси як збудників хвороб рослин.
2. Охарактеризуйте віроїди як збудників хвороб рослин.
3. Вкажіть особливості будови і розмноження вірусів.
4. Вкажіть особливості будови і розмноження віроїдів.
5. Перерахуйте основні симптоми вірусних хвороб рослин.
6. Як розповсюджуються віруси всередині рослини і в природі?
7. Перерахуйте основні методи діагностики вірусних хвороб рослин.

Рекомендована література

1. Билай В. И., Гвоздяк Р. И., Скрипаль И. Г. Микроорганизмы – возбудители болезней растений. К.: Наукова думка, 1988. 552с.
2. Дудка И.А. и др. Методы экспериментальной микологии К.: Наукова думка, 1982. 552 с.
3. Журавлев И. И. Диагностика болезней леса. М.: Сельхозиздат, 1962. 194 с.
4. Цилюрик А. В., Шевченко С. В. Лісова фітопатологія: підручник для студ. вищих навч. закладів. К.: КВІЦ, 2008. 464 с.
5. Чумакова А. Е., Минкевич И. И., Власов Ю. И., Гаврилова Е. А. Основные методы фитопатологических исследований. М.: Колос, 1974. 190с.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №7

Тема: ДІАГНОСТИКА НЕМАТОД – ЗБУДНИКІВ ХВОРОБ ЗА МОРФОЛОГІЧНИМИ ТА МОРФОМЕТРИЧНИМИ ДАНИМИ.

Мета: ознайомитися з морфологією, анатомією морфометрією фітопаразитичних нематод.

Обладнання та матеріали: гербарій рослин з симптомами ураження нематодами, чашки Петрі, пінцети, годинникові скельця, предметні та покривні скельця, препарувальні голки скальпелі, мікропрепарати нематод, плакати.

Завдання:

1. Ознайомитися з зовнішньою та внутрішньою будовою нематод.
2. Замалювати будову систем та органів нематод в робочий зошити.
3. Законспектувати основні моменти з морфології та анатомії нематод.

Теоретична частина.

Зовнішня будова, органи чуття та шкірні залози нематод.

У процесі роботи студенти знайомляться з формою тіла нематод, розташуванням органів чуття, шкірних залоз і їх проток і отворів на поверхні тіла, будовою шкірно-м'язового мішка (на поперечному зрізі). Знання цих деталей будови необхідно для діагностики нематод.

Тіло нематод циліндричне, частіше ниткоподібне або веретеноподібне, але у самок деяких нематод, провідних нерухомий спосіб життя, воно грушоподібне, лимоноподібне або кулясте (рис. 7.1). Довжина тіла більшості фітонематод не перевищує 0,5 ... 1,5 мм, лише зрідка зустрічаються більші форми. Воно безбарвно і прозоро, тому внутрішні органи добре проглядаються. Тільки відмерлі самки-цисти стають жовтими або коричневими. Тіло підрозділяється на 3 відділи, з яких передній, що складається з головної капсули і глоткової частини, включає частину кишковика, утворену ротовою порожниною, або стоною, і добре розвиненим, значним за

розміром стравоходом (рис. 7.2). У середньому відділі, або власне тілі, знаходиться середня кишка і статеві залози. Початок цього відділу зазвичай добре помітно завдяки тому, що заповнений вмістом кишечник непрозорий і чітко окреслений. Від анального отвору назад йде хвостовий відділ, який може мати різну форму.

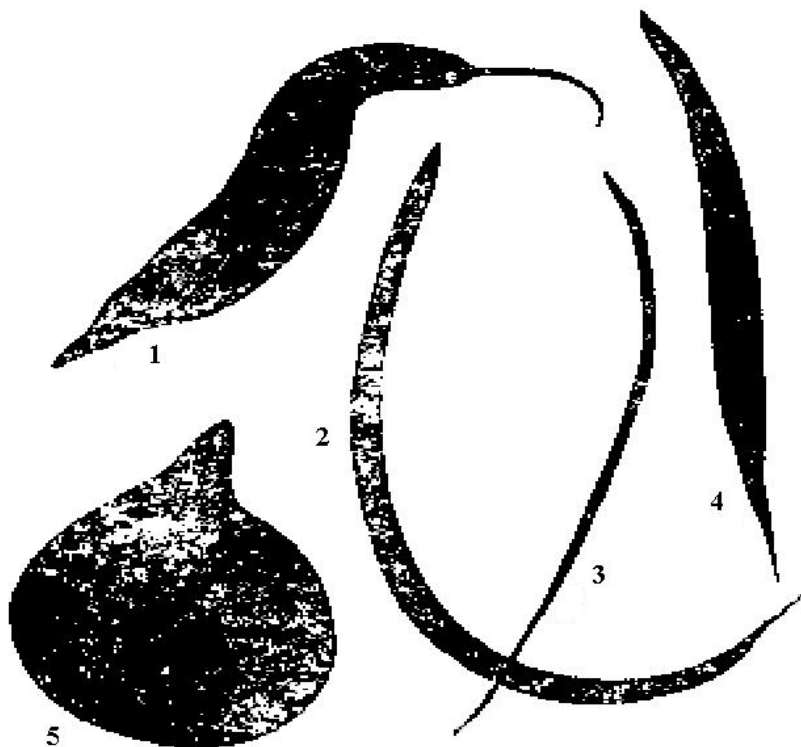


Рис. 7.1. Основні форми тіла фітонематод (за О.О. Парамоновим, 1962):

1 – товста циліндрійдна; 2 – струнка циліндрійдна; 3 – ниткоподібна; 4 – веретеноподібна; 5 – роздута (кругла, грушоподібна).

У самок нематод, що ведуть сидячий спосіб життя, він редукований. Вивчити будову шкірно-м'язового мішка нематод

можна на препараті поперечного зрізу тіла, який розглядають при малому збільшенні мікроскопа.

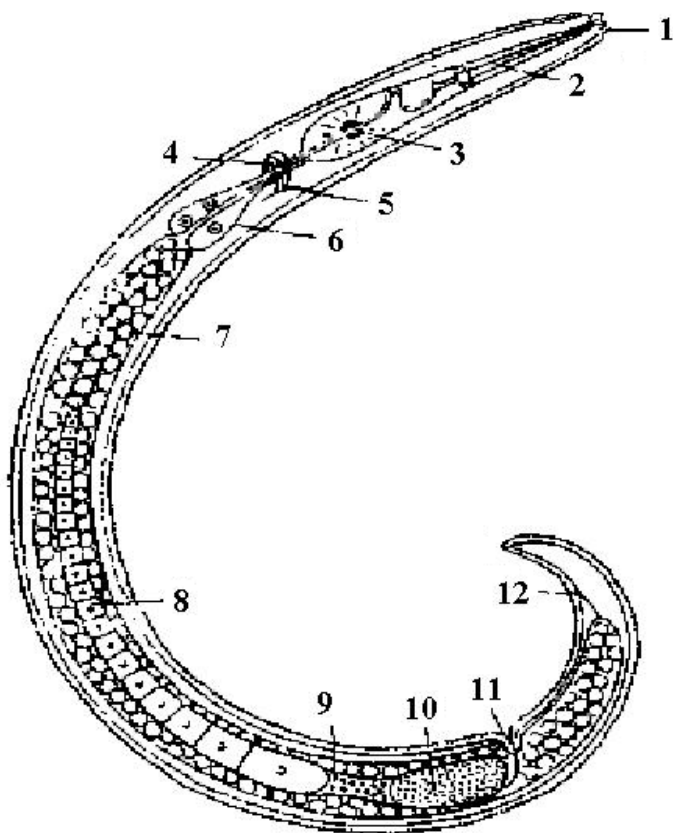


Рис. 7.2. Розташування головних органів в тілі нематоди (за Х. Деккером, 1972):

1 – губи; 2 – стилет; 3 – середній бульбус стравоходу; 4 – нервово кільце; 5 – екскреторна пора; 6 – задній бульбус стравоходу; 7 – середня кишка; 8 – яєчник; 9 – яйцепровід з сім'яприймачем; 10 – матка з яйцем; 11 – вульва; 12 – анальний отвір (анус).

У поперечному перерізі тіло нематод кругле (рис. 7.3). Зовнішній шар шкірно-м'язового мішка утворений кутикулою,

яка може бути гладкою або частіше кільчастою. З боків проходить кілька поздовжніх жолобків кутикули, званих інцизурами, які розділені невеликими валіками. Ці утворення називаються бічними полями. Вони полегшують можливість згинання тіла в спинно-черевному напрямку, а особливості їх будови використовуються в сучасній систематиці. Під кутикулою лежить гіподерма, що утворює 4 потовщення (2 бічних, спини і черевного), до неї зсередини примикає один шар поздовжніх м'язових клітин.

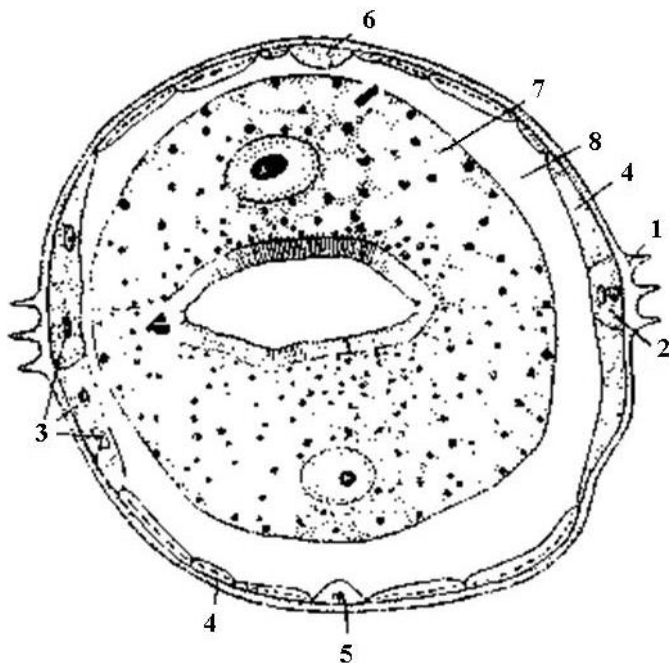


Рис. 7.3. Поперечний зріз нематоди з роду рабдітіс (за О.О. Парамоновим, 1962):

- 1 – бічне кутикулярне поле; 2 – бічний гіподермальний валік;
 3 – ядра гіподерми; 4 – м'язи; 5 – черевний гіподермальний валік; 6 – спинний гіподермальний валік; 7 – кишковик; 8 – порожнина тіла.

Важливе значення в систематиці має також будова і розташування шкірних залоз і їх проток (рис. 7.4).

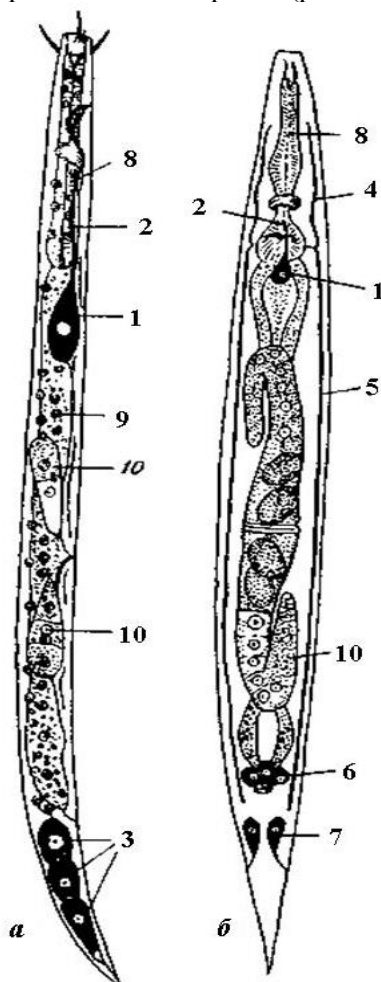


Рис. 7.4. Схема розташування шкірних залоз нематод (за О.О. Парамоновим, 1962):

а – афазмідієві; б – фазмідієві; 1 – ренета; 2 – екскреторна протока; 3 – хвостові залози; 4 – передні канали ренети; 5 – задні канали ренети; 6 – ректальні залози; 7 – фазмідії; 8 – стравохід; 9 – середня кишка; 10 – яєчники.

У більшості фітонематод розвинені 2 бічні хвостові залози – фазміди, у ектопаразитів з підкласу аденофорей (дорілайміди, лонгідоріди та ін.) фазміди відсутні, але є хвостові залози. Видільна система представлена також видозміненою шкірною залозою (ренетою), що складається з тіла залози, каналу та видільної (екскреторної) пори, що відкривається в області стравоходу, на рівні навкологлоткового нервового кільця. Ренета може бути розгалуженою або компактною.

Органи дотику нематод (тангорецептори), що мають вигляд невеликих сосочків (папілл), щетинок або реберець, розташовуються переважно на головному відділі, можуть бути на різних частинах тіла, а у самців – в районі клоаки або на бурсальних крилах.

На рівні навкологлоткового нервового кільця у багатьох нематод помітна пара шийних сосочків – дейрід. Органи хімічного чуття (амфіди) або пороподібні і лежать на губах, або ж круглі, кишенькоподібні, спіралеподібні і знаходяться з боків головного відділу.

В ході лабораторної роботи нематод вимірюють і обчислюють індекси, що вживаються для їх характеристики і діагнозу, де латинською літерою L позначається довжина тіла; a – відношення довжини тіла до найбільшої її ширині; b – відношення довжини тіла до довжини стравоходу; c – відношення довжини тіла до довжини хвоста; показник V (у самок) відстань від головного кінця до вульви у відсотках від загальної довжини тіла. Наприклад, індекси самки стеблової нематої картоплі (*Ditylenchus destructor* Thorne) такі: $L = 0,72 \dots 1,44$ мкм; $a = 34$; $b = 9$; $c = 17,5$; $V = 78 \dots 83\%$.

Травна система нематод.

Вивчення морфології нематод краще проводити на живих об'єктах, так як у них все деталі будови видно набагато виразніше, ніж у фіксованих. Почати роботу зручніше з більш великих сапробіотичних нематод. Однак виділені з гнилої рослинної тканини ці нематоди дуже рухливі і швидко плавають у краплі води, змієподібно згинаючи тіло. Для того, щоб зупинити їх, предметне скло слід провести кілька разів протягом 5 ... 6 секунд над полум'ям спиртівки, уникаючи перегріву. Не накриваючи краплю покривним склом, подивитися на неї через

бінокляр або мікроскоп і переконатися, що в результаті теплового заціпеніння нематоди перестали рухатися. Після цього можна накрити препарат покривним склом і розглянути його спочатку при малому, а потім при великому збільшенні мікроскопа. Фітогельмінти рухаються більш повільно й плавно, проте для кращого розгляду їх теж треба зупинити. В крайньому випадку можна використовувати спеціально забарвлені або незабарвлені постійні препарати.

Кишкова трубка нематод підрозділяється на 3 відділи: передню (стому і стравохід), середню і задню кишку. Залежно від способу харчування передній відділ кишковика суттєво відрізняється у нематод, що населяють те чи інше середовище проживання. На занятті розбирають будова нематод наступних екологічних груп: прикореневих, що мешкають в ризосфері і пов'язаних з рослиною; типових сапробіонтів, що живуть в гниючих рослинних рештках; фітогельмінтів – справжніх паразитів рослин. Оскільки в практиці роботи іноді виникає необхідність розпізнати нематод різних екологічних груп, особливу увагу слід звернути на будову стоми і стравоходу, відмінності між якими у представників всіх груп виражені досить чітко. Розглядаючи препарат з нематодами з сапробіоса, можна помітити, що у деяких з них (представників родини Рабдітід – *Rhabditidae*) стома має вигляд циліндричної трубки (рис. 7.5, а, г). За нею слідує м'язистий прокорпус стравоходу, що переходить у розширений метакорпальний, або середній, бульбус, мускулатура якого також сильно розвинена. Далі стравохід звужується, утворюючи перешийок, або істмус, охоплений навкологлотковим нервовим кільцем.

Потім стравохід знову розширюється, утворюючи кардіальний бульбус, що має форму цибулини. Усередині нього добре проглядається кутикулярне утворення, іменоване дробильним апаратом і служить для подрібнення харчових грудок. У живих нематод можна спостерігати ритмічні рухи дробильного апарату.

Три одноклітинні стравохідні залози, що знаходяться в тканині кардіального відділу, розвинені слабо.

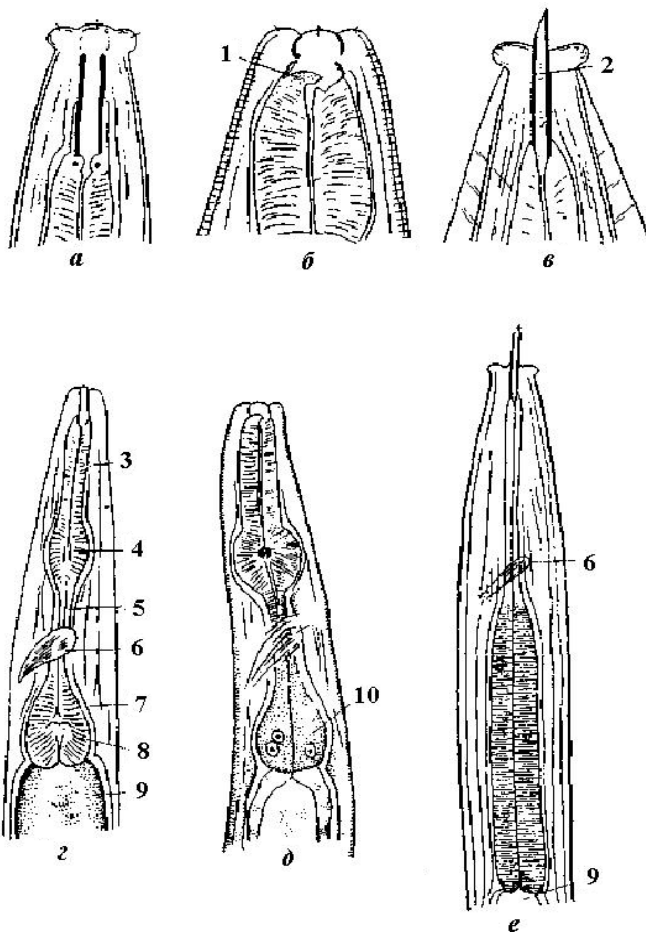


Рис. 7.5. Ротові порожнини і стравоходи сапробіотичних і прикореневих нематод (за О.О. Парамоновим і Ф.І. Брюшковой, 1956):

а – стома рабдітід; б – стома діплогастерід; 1 – зуб; в – стома дорілаймід; 2 – спис; г – стравохід рабдітід; 3 – прокорпус стравоходу; 4 – середній (метакорпальний) бульбус; 5 – перешийок (істмус); 6 – нервово кільце; 7 – задній (кардіальний) бульбус; 8 – дробильний апарат; 9 – середня кишка; д – стравохід діплогастерід; 10 – стравохідні ферментативні залози; е – стравохід дорілаймід.

Використання для харчування малокалорійної їжі, обробленої і гідролізованої ферментами бактерій, призвело до послаблення ферментативної і посиленню моторної функції стравоходу у рабдітід.

На цьому ж препараті з нематодами із сапробіосу можна виявити хижих діплогастерід (родина *Diplogasteridae*). У них стома коротка, бокалоподібна, із зубом, який проколє кутикулу інших нематод і їх личинок, які служать для них їжею (рис. 7.5, б, д).

На відміну від рабдітід у цих нематод добре розвинені всі 3 стравохідні залози, які знаходяться в тканині кардіального відділу, позбавленого дробильного апарату. Протока спинної травної залози відкривається у основу стоми або в порожнині зуба, а протоки двох черевних залоз - в просвіт кардіального бульбуса.

З групи прикореневих нематод розглядають представників родини дорілаймід – *Dorylaimidae*. За способом живлення ці нематоли хижакли або ектопаразити. Їх стома перетворена в спис з широким просвітом всередині і косо зрізаною вершиною (рис. 7.5, в, е).

Задня частина стравоходу розширена, утворена добре розвиненою радіальною мускулатурою. Протоки п'яти одноклітинних стравохідних залоз відкриваються в просвіт стравоходу позаду нервового кільця. Проколюючи копійцем оболонку рослинних клітин, нематоли за допомогою м'язистого стравоходу всмоктують рідкий вміст.

Розглядаючи препарат з живими, виділеними з рослинної тканини фітогельмінтами (наприклад, стебловою нематодою картоплі), спочатку звертають увагу на характер їх руху, а потім, зупинивши шляхом підігріву, вивчають органи травлення. Їх стома перетворена на колючо-сисний апарат – стилет. Це тонка, загострена до вершини, порожниста і тверда трубка з капілярним просвітом всередині. Навіть при малому збільшенні мікроскопа стилет добре проглядається у вигляді тонкої булавочки з головкою. Основа стилету розширена і у більшості має 3 здуття – базальні головки, до яких прикріплюються м'язи – протрактори, які висувають стилет назовні. Іншим кінцем м'язи

прикріплюються до «головної шапочки» – потовщення кутикули на головному кінці нематоди (рис. 7.6, а).

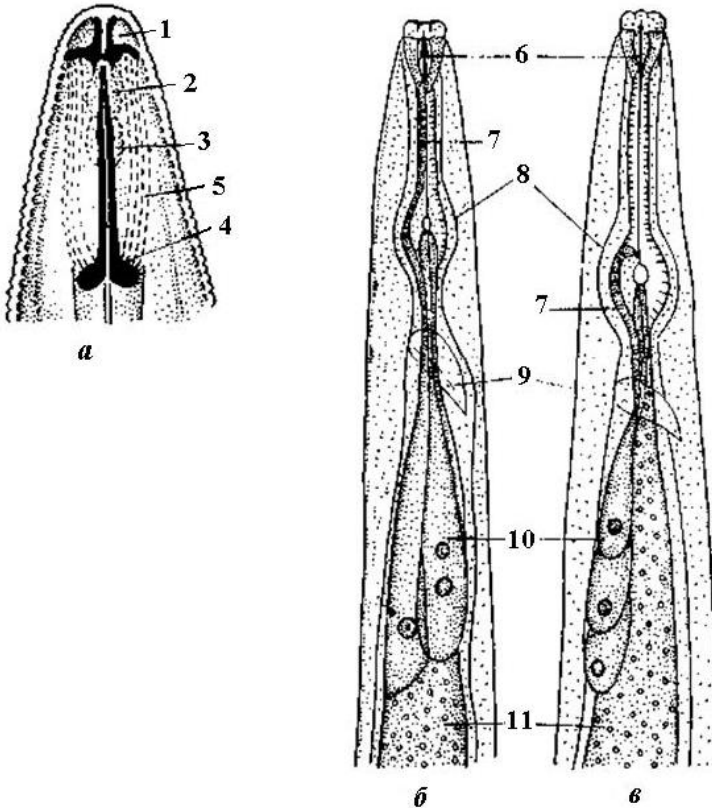


Рис. 7.6. Ротова порожнина і типи стравоходів у фітогельмінтів (за О.О. Парамоновим, 1962; С.Г. Мюге, 1964):

а – головний кінець тіла: 1 – головна капсула; 2 – вістря стилета; 3 – корпус стилета; 4 – базальні головки стилета; 5 – м'язи, які висувають стилет; б – тіленхоїдний стравохід, в – афеленхоїдний стравохід: 6 – стилет; 7 – протока спинної залози; 8 – середній бульбус; 9 – нервово кільце; 10 – стравохідні ферментативні залози; 11 – кишечник.

Чим крупніше базальні головки, тим потужніше мускулатура, яка до них кріпиться, і тим значніше колюча сила стилету, наприклад у нематод з родини різношкірих (*Heteroderidae*). Навпаки, нематоди родини афеленхоніди (*Aphelenchoididae*) мають стилет зі слабо розвиненими базальними потовщеннями або зовсім позбавлений їх, тому й колюча сила його невелика. Капілярний просвіт стилета забезпечує надходження в стравохід лише рідкої їжі, але завдяки особливим властивостям капілярних судин, рідина піднімається по них майже без зусиль з боку організму.

Стравохід тіленхоніди (рис. 7.6, б, в) складається з тих же відділів, що і стравохід рабдітиди, проте їх травні залози розвинені дуже добре і знаходяться або в тканині стравоходу і займають весь кардіальний відділ його (тіленхонідний тип стравоходу), або лежать поруч з кишечником в порожнині тіла (афеленхонідний тип стравоходу).

Травних залоз 3, і кожна з них утворена однією клітиною. У стравоході тіленхонідного типу одна залоза розташована на спинній стороні і її протока відкривається у основи стилета, а протоки двох черевних залоз – в просвіт середнього бульбуса.

У стравоході афеленхонідного типу протоки всіх трьох залоз відкриваються в середній бульбус; задній відділ стравоходу, плавно розширюючись, переходить в кишечник.

Розглянувши та замалювавши органи травлення, можна використовувати ці ж екземпляри для вивчення статеві системи нематод. Щоб препарати не пересихали, потрібно час від часу додавати піпеткою краплю води, розташовуючи її біля краю покривного скла.

Статева система нематод.

Нематоди – роздільностатеві тварини, самки, зазвичай, більші за самців. Якщо на препараті є нематоди різного віку, для вивчення слід відшукати дорослих, самих великих особин. У представників деяких родин (різношкірих, напівзанурених) різко виражений статевий диморфізм: самки роздуті, самці червоподібні.

Статева система рабдітиди і діплогастеріди має загальну схему будови (рис. 7.7).

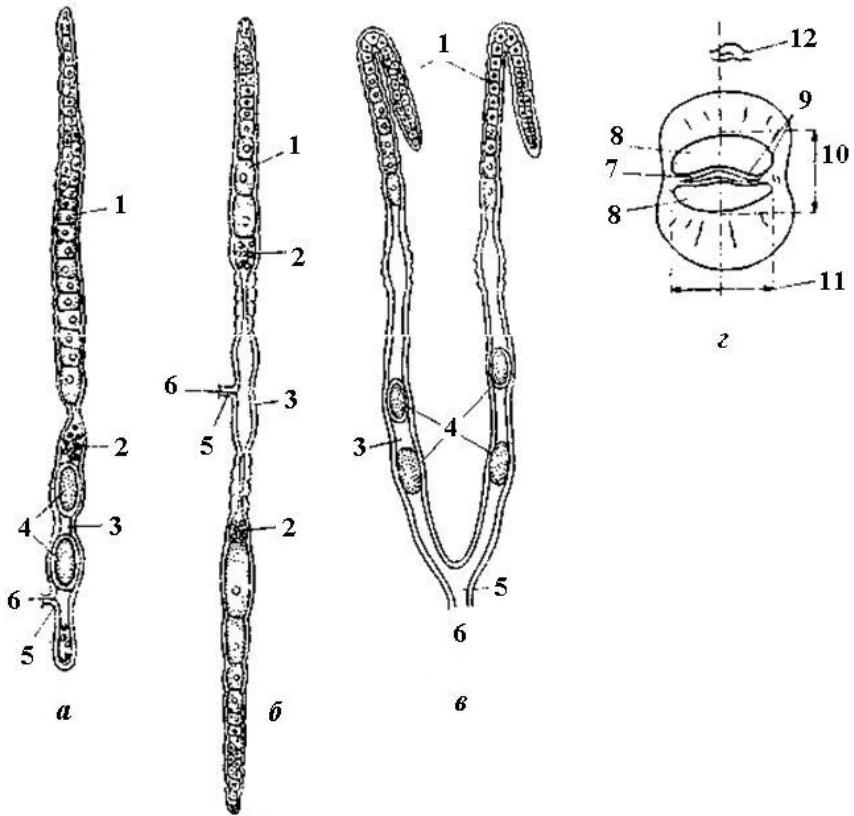


Рис. 7.7. Різні форми статевої системи самок і область вульви у цист (за Х. Деккером, 1972):

а – непарний яєчник; б – парні яєчники (амфідельфне розташування); в – парні яєчники (продельфне розташування);

г – область вульви у цист; 1 – яєчник; 2 – яйцепровід з сім'яприймачем; 3 – матка; 4 – яйце; 5 – піхва (вагіна); 6 – вульва; 7 – щілина вульви; 8 – напіввікно; 9 – вульварний міст; 10 – довжина вікна (фенестри); 11 – ширина вікна; 12 – анус.

У самок червоподібних фітогельмінтів зазвичай зберігається лише одна (передня) статеві трубка (моделельфна форма з продельфним розташуванням).

Від задньої трубки залишається невеликий рудимент, званий поствувльварним мішком, або задньою маткою (рис. 7.7, а). У матці проглядається не більше 1 ... 2 яєць.

У самок вона складається з парних яєчників, яйцепроводів з невеликим розширенням (сім'яприймачем) і маток, непарної піхви (вагіни) і статевого отвору – вувльви, яка знаходиться в середині тіла (рис. 7.7, б). Нематоди з парними статевими трубками належать до дідельфних форм. У сапробіонтів одна статева трубка спрямована до голови, інша – до хвоста (амфідельфне розташування). Матка дорослих самок містить велику кількість яєць (20 ... 30 шт.). Іноді на препараті можна виявити старих особин, що втратили здатність відкладати яйця і заповнених личинками, які вже вийшли з яєць.

Статева система самок сидячих нематод (різношкірих і галових) парна, але статеві трубки розташовані паралельно і направлені вперед (продельфне розташування). Вувльва відкривається на задньому кінці тіла поряд з анальним отвором (рис. 7.7, в).

Статева трубка самця, зазвичай, непарна і складається з сіменника, сім'япроводу і сім'явивергального каналу, який відкривається в задню кишку (рис. 7.8). Тут знаходиться злягальний апарат, представлений двома кутикулярними спікулами, роздвоєною пластинкою – рульком, і двома прозорими складками кутикули – бурсальними крилами, або бурсою, що має зазвичай невеликі потовщення – реберця. Бурса починається вище ануса і доходить майже до кінчика хвоста (лептодерна) або охоплює його (пелодерна).

Форма спікул у нематод різних систематичних груп сильно варіює (рис. 7.9), що може бути використано при визначенні видів. Так, наприклад, спікула афеленхондів потужна, сильно вигнута, часто з великим вентральним відростком (рис. 7.9, в).

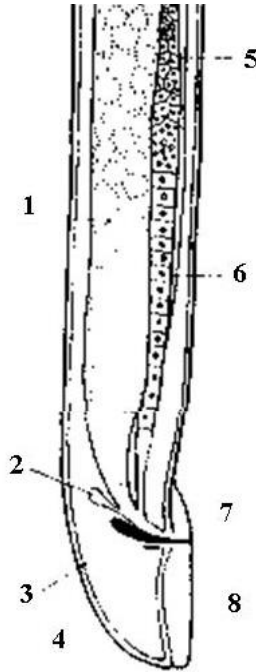


Рис. 7.8. Задня частина тіла самця (за Х. Деккером, 1972):
 1 – кишечник; 2 – ректальні залози; 3 – спікула; 4 – рутьок; 5 – сім'яник; 6 – сім'япровід; 7 – клоака; 8 – бурса.



Рис. 7.9. Різні форми спікул (за Х. Деккером, 1972):
 а – основна форма: 1 – головка спікули; 2 – тіло спікули; 3 – рутьок; б – спікула різношкірих нематод; в – спікула афеленхоїдів: 4 – вентральний відросток.

Контрольні питання для самоперевірки

1. До якого класу тварин належать нематоди?
2. Як називається статевий орган самки нематоди?
3. Як називається статевий орган самця нематоди?
4. Як називається самка нематоди, яка має дві статеві трубки?
5. Скільки личинкових стадій розрізняють у фітонематод в постембріональному розвитку?
6. До якого роду відноситься Картопляна цистоутворююча нематода?
7. До якого ряду відноситься Картопляна цистоутворююча нематода?
8. Для нематод якого ряду характерний ротовий стилет?
9. Які складові покривів тіла характерні для нематод?

Рекомендована література

1. Пилипенко Л. А. і ін. Молекулярно-генетична діагностика карантинних видів фітопаразитичних нематод. К.: Колобів, 2012. 80 с.
2. Парамонов А. А. Основы фитогельминтологии. Москва : Изд. АН СССР, 1962, 1964, 1970. т. I, т. II, т. III.
3. Сігарьова Д. Д., Пилипенко Л. А., Борзих О. І., Ковтун А. М.. Сільськогосподарська нематологія : монографія. Київ : Агр. наука, 2017. 340 с.
4. Цилюрник А. В., Шевченко С. В. Лісова фітопатологія: підручник для студ. вищих навч. закладів. К.: КВІЦ, 2008. 464 с.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №8

Тема: ОБСТЕЖЕННЯ ЛІСОВИХ КУЛЬТУР, ҐРУНТУ І ДЕРЕВИНИ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ФІТОНЕМАТОД. СИСТЕМАТИКА ТА КЛАСИФІКАЦІЯ НЕМАТОД.

Мета: ознайомитися з методами виділення нематод та виготовлення препаратів для їх діагностування, ознайомитися з основними родинами фіто паразитичних нематод.

Обладнання та матеріали: ґрунтові бури або ложки об'ємом 5 см³, скальпелі, пінцети, ножиці, ручні лупи, пробірки, простий графітний олівець і папір для етикеток, мікроскопи МБС-9, штативи або підставки для лійок, препарувальні голки, металеві сітки з чарунками 2 ... 6 мм, сита діаметром 10 ... 16 см з чарунками 2...3 мм і 0,1 ... 0,2 мм, кювети емальовані білі, затискачі Мора, лійки діаметром 10 ... 15 см і 20 ... 25 см, чашки Петрі, годинникові, предметні і покривні скельця, піпетки, скляні палички, літрові хімічні стакани, фільтрувальний папір, шпатель, аптечні ваги з грузилами, порцелянові ступки з маточками, 40%-вий формалін, гліцерин, гліцерин-желатин, клей БФ-2, волокна скляної вати, електрична плитка і посудина з гарячою водою, спиртівки.

Завдання:

1. Ознайомитися з методами відбору зразків для нематологічної експертизи. Законспектувати основні моменти.
2. Ознайомитися з методами виділення нематод із зразків для нематологічної експертизи. Законспектувати основні моменти.
3. Ознайомитися з методами приготування тимчасових та постійних мікропрепаратів нематод.
4. Опанувати методику визначення нематод за допомогою визначників.

Теоретична частина.

Обстеження лісових культур, ґрунту і деревини для виявлення фітонематод

Виявлення корневих нематод в ґрунті.

Відбір ґрунтових проб. Обстеження ґрунту можна проводити в будь-який час року. На ділянках площею до 0,5 га

грунтовим буром або ложкою відбирають 50 проб об'ємом по 5 см³ з глибини 5 ... 10 см, з'єднують в один зразок (250 см³), поміщають в пакет або мішечок і вкладають туди етикетку. На етикетці має бути позначена точне місце розташування ділянки, площа, дата відбору та прізвище обстежувача. Великі ділянки розбивають на більш дрібні, що не перевищують 0,5 га, і з кожної відбирають середній зразок об'ємом 250 см³. У насінницьких господарствах з кожного гектара відбирають 8 середніх ґрунтових зразків об'ємом по 250 см³.

Виявлення галових нематод. Проводиться шляхом огляду коренів. Дрібні галли на коренях стають помітними через 15 ... 20 днів після посадки рослин. З часом число галів і розміри їх збільшуються. У теплицях коріння потрібно переглядати при видаленні огірків і томатів після закінчення вегетації. Місце, де виявлено хвору рослину, відзначається або наноситься на план теплиці, підраховується число і відсоток уражених рослин. Коріння піддаються лабораторному аналізу.

При необхідності перевірити ґрунт теплиці на наявність у ній галових нематод в ґрунт висівають насіння огірків або салату. Насіння сіють або в ґрунт, або в вегетаційні посудини або квіткові горщики (10 ... 15 насінин в горщик). Коріння рослин переглядають через 20 ... 30 днів.

Виділення нематод з рослин та ґрунту

Виділення червоподібних нематод з рослин. Зібрані при обстеженні надземні частини рослин розрізають на шматочки довжиною 1 ... 2 см. Якщо рослина має явні ознаки пошкодження, можна відразу переглянути шматочки під бінокуляром в чашках Петрі або в часових скельцях у воді. Препарувальними голками розщеплюють тканину уздовж волокна, через 20 ... 30 хв частини рослини видаляють пінцетом і осад розглядають.

Дорослі нематоди і личинки виходять у воду. Якщо рослина на вигляд здорово або потрібно виділити по можливості всіх нематод, нарізані шматочки на початку заняття ставлять на виділення у лійки Бермана. На кінець звичайної лійки діаметром 10 ... 15 см надягають шматок гумової трубки із затиском Мора або вставляють в неї маленьку пробірку. У воронку поміщають

сітку з латунного дроту або млинового газу з отворами 0,1 ... 0,3 мм, на сітку кладуть розщеплені шматочки рослини, заливають їх водою або 0,15–0,3%-вим розчином перекису водню. Злив води з воронки можна переглянути під бінокляром в кінці заняття або на наступний день. Таким же способом можна виділити стеблову нематоду картоплі з розрізаної бульби, взявши шматочки на межі здорової й пошкодженої частини.

У разі необхідності визначити вид нематод їх відловлюють в краплю води на предметне скло. Для цього тонкою препарувальною голкою, зробленою з ентомологічної шпильки зі злегка вигнутим кінчиком, підводять під тіло нематоди і легкими поштовхами піднімають її до плівки поверхневого натягу, потім підводять голку під середину тіла, швидким рухом виймають нематоду і переносять її в краплю води. Лівою рукою поступово повертають гвинт наведення на різкість, щоб не випускати нематоду з поля зору.

Виділення нематод з коренів. На коренях з галлами помітні світло- і темно-коричневі яйцеві мішки самок. Один-два невеликих гала відрізають і поміщають у воду на предметне скло. Препарувальними голками під бінокляром (на темному фоні) розривають гал з боку, протилежного яйцевих мішків, і витягають із нього білих грушоподібних самок. Тут же можуть бути і пляшкоподібні личинки III ... IV віків і яйця.

Щоб *виділити з коренів червоподібних нематод*, коріння відмивають від ґрунту, розрізають на шматочки довжиною 1 ... 1,5 см, відбирають наважки по 3 ... 5 г, заливають їх водою в чашках Петрі (не накриваючи), а через 48 год, видаливши коріння і зайву воду, осад переглядають під бінокляром або фіксують.

Виділення рухливих нематод з ґрунту. Наважку свіжої ґрунту масою 10 ... 50 г, що не містить коренів, розсипають тонким шаром на ватяному фільтрі, вміщеному в плоске сито з отворами 2 ... 3 мм діаметром 10 ... 16 см, яке ставлять у воронку Бермана. Воду заливають збоку від сита, щоб вона поступово покривала ґрунт. Щодня протягом 3 діб зливають для аналізу по 20 мл рідини. Наочним для студентів і зручним для роботи є перегляд під бінокляром наважок ґрунту в 1 г, розбавлених в

чашках Петрі невеликою кількістю води, звідки виявлених нематод відловлюють.

Порядок виготовлення препаратів

Фіксація. У пробірки зливають з воронки Бермана, в яку напередодні помістили частини рослини для виділення нематод, невелику кількість води з живими нематодами.

Потім пробірки поміщають в посудину з гарячою (60 ... 65 °С) водою на 5 хв. і додають в неї 40% -ного формаліну з розрахунку 1 частина формаліну на 9 частин води, щоб отримати 4% -вий фіксуєчий розчин.

Тимчасові препарати. Кожному студенту в годинникове скло наливають невелику кількість рідини із зафіксованими нематодами, звідки вони виловлюють нематод препарувальною голкою і переносять на предметне скло в краплю суміші, що складається з 1 частини гліцерину і 9 частин дистильованої води. Туди під бінокелем вносять кілька волокон скляної вати, які розміщують по краях краплі, і накривають краплю покривним склом.

Постійні препарати. При виготовленні постійних препаратів можна використовувати попередньо просвітлених, просочених гліцирином нематод. Для цього нематод відмивають від фіксатора, поміщаючи їх на 10 хв у чисту воду, а потім переносять у суміш з 1/4 гліцерину і 3/4 дистильованої води або з 1 частини гліцерину і 3 частин 96% -ного спирту, де залишають на кілька днів до повного випаровування води або спирту.

Порядок приготування гліцерин-желатину наступний: 10 г подрібненої желатини заливають 60 мл дистильованої води і залишають набухати протягом декількох годин. Потім додають 40 мл гліцерину і 1 г фенолу, нагрівають на водяній бані до повного розчинення желатини, після чого суміш фільтрують через скляну вату в термостаті в широку пробірку і охолоджують.

Пробірку з гліцерин-желатином розігрівають на киплячій водяній бані. Скляною паличкою, що знаходиться в пробірці, наносять на предметне скло краплю розплавленого гліцерин-желатину, переносять у неї просвітлених нематод, цисти або

анально-вульварні пластинки, оточують краплю волокнами скляної вати, швидко накривають покривним склом і злегка підігрівають над полум'ям спиртівки для рівномірного розподілу складу.

Для запобігання висихання препарату покривні скельця окантовують клеєм БФ-2, канадським або смерековим бальзамом, асфальтовим лаком або лаком для нігтів. Як на постійних, так і на тимчасових препаратах на предметному склі обов'язково пишуть маркером етикетку, в якій вказують місце і час збору матеріалу, число нематод в препараті і прізвище виготовлювача.

Щоб напис з часом не стерся, на нього наносять шар клею або лаку.

Систематика та класифікація нематод

Об'єкти вивчення: постійні препарати або фіксовані нематоди і цисти представників родин дорілаймід, лонгідорід, рабдітід, діплогастерід, тиленхід, гетеродерід, галових, тіленхулід, афеленхоїдід, визначальні таблиці. У визначальні таблиці включено лише ті таксономічні групи, до яких входять найважливіші з практичної точки зору види.

Визначення підкласу та рядів класу нематод (*Nematoda*) по визначальним таблицям

1 (4). Фазміди є. Тангорецептори у вигляді папілл. Амфіди поровидної форми відкриваються на бічних губах
.....підклас **Сецерненти**, або **Фазмідієві - *Secernentea***.

2 (3). Стилет завжди відсутній. Задній бульбус стравоходу м'язовий – з клапаном, або залозистий – без клапана
.....ряд **Рабдітиди - *Rhabditida***.

3 (2). Стилет є. Задня частина стравоходу завжди залозиста; вона може складатися з бульбуса або у вигляді лопаті покриває початок кишечника ряд **Шишкоголкові - *Tylenchida***.

4 (1). Фазміди відсутні. Тангорецептори у вигляді щетинок. Амфіди круглої, спіральної або кишенькоподібної форми лежать з боків голови
.....підклас **Аденофореї**, або **Афазмідієві - *Adenophorea***.

- 5 (6). Хвостові залози є. Стравохід розділений на 3 відділи. Переважно дрібні форми, більшість їх живе в морі, частина в прісній воді і відносно рідко в ґрунтіряд **Хромадоріди - Chromadorida**.
- 6 (5). Хвостові залози відсутні. Стравохід складається з 2 відділів: вузького переднього і широкого заднього. Ротова порожнина озброєна списом (одонтостілем) або копьєподібним зубом. Дрібні форми, зазвичай довжиною від 0,3 до 1 ... 2 мм, часто живуть у ґрунті ряд **Дорілайміди - Dorylaimida**.

Коротка характеристика підкласів та рядів

Підклас сецерненти – Secernentea. Мешканці прісних вод і ґрунту, сапробіонти, паразити рослин і тварин. Для фітонематод цього підкласу характерно п'ятичленна будова стоми, озброєної рухливими зубами, або нерухожими онхами або перетвореної в стилет. Черевні стравохідні залози ніколи не відкриваються в прокорпусу стравоходу. Є ректальні залози, хвостові відсутні. Видільна система (ренетта) розгалужена, екскреторний канал довгий, дистальна частина його біля пори сильно склеротизована. Отвори амфід на губах здебільшого пороподібні. Підклас містить багато рядів, частина яких складається виключно з зоогельмінтів. Нижче дається опис лише трьох рядів, що включають переважно фітонематод.

Ряд рабдітиди – Rhabditida. Дрібні до 3 мм довжини форми з стравоходом, що складається з трьох відділів: корпусу, істмуса і кардіального бульбуса. Стома п'ятичленна у вигляді трубки без стилета або списа. Кутикула гладка або кільчаста.

Переважає більшість рабдітид – сапробіонти, які часто в масі зустрічаються в загниваючих частинах рослин, звідки можуть бути виділені при фітогельмінтологічній експертизі. Найбільш звичайні представники родини рабдітид (*Rhabditidae*), діплогастерід (*Diplogasteridae*) і цефалобід (*Cephalobidae*).

Ряд шишкоголокві нематоди – Tylenchida. Стома перетворена в рухливий стилет з базальними потовщеннями або без них (виняток становлять самці деяких видів, у яких стилет редукований). Стравохід містить також 3 відділи, середній бульбус зазвичай добре розвинений. Головний відділ з шістьма з'єднаними губами, кутикула тонко- або грубокільчаста. Ренетта

з одним бічним каналом, екскреторна пора лежить на рівні нервового кільця, тільки у роду тіленхулос (*Tylenchulus*) - в середині тіла або ще далі до хвоста. Амфіди маленькі, часто непомітні. Ряд тіленхіди підрозділяється на 2 надродини: *Aphelenchoidea*, проток спинний стравохідної залози яких відкривається в просвіт стравоходу в області середнього бульбуса, і *Tylenchoidea*, проток спинної залози яких відкривається поблизу основи стилета (рис. 7.6 практ. зан. №7).

Підклас аденофореї, або афазмідієві – *Adenophorea*. Мешканці морських вод, рідше прісних, і ґрунту. Переважно вільноживучі організми, зрідка паразити рослин і тварин. Стома влаштована різноманітно, може бути озброєна зубами, онхами або списом з каналом всередині. Протоки стравохідних залоз відкриваються в основі стоми або в просвіт передньої частини стравоходу. Хвостові та шкірні залози зазвичай є, ректальні відсутні. Ренетта масивна, не розгалужена. Екскреторний канал короткий і склеротизований лише поблизу пори. Отвори амфід лежать позаду губ, здебільшого круглі або спіралеподібні.

Ряд дорілайміди – Dorylaimida. Кутикула гладка. Стома найбільш часто озброєна списом. Стравохід циліндричний, задня частина часто розширена, зазвичай м'язова, іноді залозиста. Стравохідних залоз 3 ... 5 (або 7), вони занурені в тканину стравоходу, їх протоки відкриваються в просвіт стравоходу позаду нервового кільця.

Амфіди стременоподібні, мішкоподібні або грушоподібні. Живуть часто в прісній воді, ґрунті та в прикореневій зоні рослин. Є хижаки і ектопаразити рослин, які можуть бути і переносниками вірусних захворювань. Найбільш важливі родини дорілайміди (*Dorylaimidae*), лонгідоріди (*Longidoridae*).

Визначення родин ряду шишкогোলкових нематод (*Tylenchida*) по визначальним таблицям

1 (12). Спинна залоза стравоходу відкривається в просвіт стравоходу недалеко від основи стилета
..... надродина **Тіленхоїди - *Tylenchoidea*.**

2 (3). Середній бульбус стравоходу зливається з прокорпусом, тому він великий, з добре розвиненим клапаном всередині. Задній бульбус округлий або у вигляді лопаті. Стиллет з

потужними здуттями, іноді дуже довгий. Кільчатість кутикули добре розвинена, часто незвично груба. Самки з одним яєчником, вульва розташована далеко позаду. Переважно ектопаразити кореневої системи, найбільш численні і патогенні в межах роду *Paratylenchus* Micol.
..... родина **Кріконематіди - *Criconematidae***.

3 (2). Середній бульбус стравоходу не зливається з прокорпусом, він середніх розмірів, маленький або відсутній зовсім.

4 (9). Самки сидячі, роздуті. Паразити кореневої системи, мешкають усередині коренів або прикріплюються до них зовні. Самці зазвичай без бурси.

5 (8). Склеротизація голови добре розвинена, стилет міцний. Середній бульбус стравоходу овальний. Самки з парними яєчниками, мішкоподібні, грушоподібні або лимоноподібні. Самці червоподібні, з коротким заокругленим хвостом. Бурса відсутня.

6 (7). Самки кулясті, грушоподібні або лимоноподібні, після смерті завжди перетворюються на жовту, коричневу цисту. Не викликають утворення галлів на коренях
..... родина **Різношкірі нематоди - *Heteroderidae***.

7 (6). Самки грушоподібні, в цисту не перетворюються, кутикула їх не темніє і залишається еластичною. Викликають утворення галів на коренях
..... родина **Галові нематоди - *Meloidogynidae***.

8 (5). Склеротизація голови слабка, стилет у самців недорозвинений або відсутній. Середній бульбус стравоходу великий і округлий. Самки з непарним яєчником, мішкоподібні. Самці червоподібні з подовжено-конічним хвостом. Бурса є або відсутня родина **Напівзанурені нематоди - *Tylenchulidae***.

9 (4). Самки рухливі, червоподібні. Самці зазвичай з бурсою. Паразити різних частин рослин.

10 (11). Стилет потужний з великими базальними потовщеннями. Середній бульбус стравоходу овальний або круглий. Задня частина стравоходу не утворює виразного бульбуса. Стравохідні залози у вигляді лопаті закривають початок кишка родина **Хоплолайміди - *Hoplolaimidae***.

11 (10). Стиллет маленький і слабкий або середньої величини з базальними потовщеннями. Середній Бульбус стравоходу зазвичай веретеноподібний або овальний, слабо відокремлений від стравоходу. Задня частина стравоходу, як правило, утворює виразний бульбус

.... родина **Справжні шішкоголовкові нематоди - *Tylenchidae***.

12 (1). Спинна залоза стравоходу відкривається в просвіт стравоходу в районі середнього бульбуса

..... надродина **Афеленхоїди - *Aphelenchoidae***.

13 (14). Основа стилета зазвичай з головками. Залози стравоходу завжди розташовані поза стравоходом на спинній стороні тіла і тягнуться паралельно початкової частини кишечника. Бурса і рульок у самців зазвичай відсутні, спікули потужні, вигнуті

..... родина **Афеленхоїди - *Aphelenchoididae***.

14 (13). Основа стилета без головок. Залози стравоходу розташовані всередині або поза стравоходом. У самців зазвичай є вузька бурса. Спікули довгі, зазвичай майже прямі, рульок наявний

..... родина **Афеленхіди - *Aphelenchidae***.

Короткий опис найголовніших родин

Родина різношкірі нематоди – Heteroderidae. Різко виражений статевий диморфізм: самки завжди роздуті і нерухомі, самці червоподібні і рухливі. Стиллет сильно розвинений, бульбус стравоходу овальний або круглий. Стравохідні залози накривають початок кишки. Статева система самок парна, статеві трубки розташовані паралельно. Вульва знаходиться на задньому кінці тіла поряд з анальним отвором. Самки багатьох видів можуть формувати зовнішній желатиновий яйцевих мішок – оотеку, що складається з яєць і виділень ректальних залоз. Бурси у самців немає, спікули лежать близько до кінця хвоста.

Самки гетеродерід, відмираючи, перетворюються в золотисту або коричневу цисту з товстою кутикулою, наповненою яйцями, де вони зберігаються життєздатними тривалий час. У корінь самки занурені лише головним кінцем, вся інша частина тіла знаходиться зовні.

Родина *Heteroderidae* включає кілька родів, серед яких найбільше значення мають наступні.

Під *Heterodera* об'єднує нематод, що формують яйцевих мішок, цисти у них лимоноподібні з пороподібним анусом: *H. schachtii* Schmidt - бурякова нематода; *H. avenae* Woll. – вівсяна нематода; *H. trifolii* Goff. – конюшинова нематода; *H. cruciferae* Fr. – капустиана нематода; *H. humuli* Filip – хмельова нематода (рис. 8.1, 3–7).

Під *Globodera* об'єднує нематод, у яких яйцевий мішок відсутній, цисти кулясті, грушоподібні або яйцеподібні, з анусом, набагато меншим за вульву: *Globodera rostochiensis* (Woll.) Mulvey et Stone – картопляна цистоутворююча нематода (золотиста картопляна нематода) (до недавнього часу картопляна нематода належала до роду *Heterodera* і називалася *Heterodera rostochiensis*), *G. pallida* Stone – бліда картопляна нематода (рис. 8.1, 1); *G. mali* – яблунева нематода.

Під *Punctodera* об'єднує нематод, що також мають кулясті, грушоподібні або яйцеподібні цисти, але з анусом такого ж розміру, як вікно вульви: *P. punctata* Thorne - злакова нематода (рис. 8.1, 2).

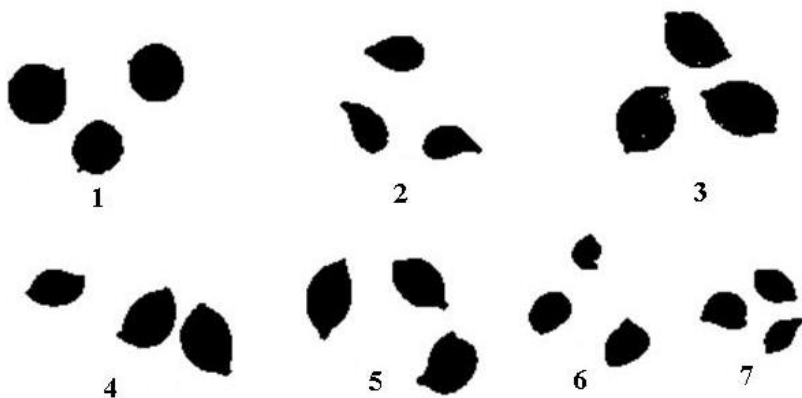


Рис. 8.1. Форми цист різних видів нематод (за Х. Деккером, 1972):

1 – картопляної; 2 – злакової; 3 – бурякової; 4 – вівсяної; 5 – конюшинової; 6 – хмельової; 7 – капустианої.

Родина галові нематоди – *Meloidogynidae*. Різко виражений статевий диморфізм: самці червоподібні, самки

роздуті, грушоподібні. Самки роду галових нематод (*Meloidogyne*) занурені цілком всередину кореня, зовні може бути видно лише яйцевий мішок, в який вони відкладають всі яйця. Кутикула їх залишається еластичною і білою, цисти не формуються. На коренях в місці проживання нематод утворюються гали.

На території України зустрічається кілька видів галових нематод, переважно в закритому ґрунті теплиць: *M. incognita* Kof. et White – південна; *M. arenaria* Neal. – арахісова; *M. javanica* Tretib. – яванская; *M. hapla* Chitwood – північна. Більшість видів родини – небезпечні паразити рослин.

Родина напівзанурені нематоди – Tylenchulidae. Статевий диморфізм різко виражений: самки мішкоподібні, самці ниткоподібні. Стиллет у самок розвинений нормально, у самців – слабо, або відсутній, а стравохід редукований. Яєчник у самок один, вульва розташована далеко позаду. Самці без бурси. Паразити кореневої системи. Найбільше значення має цитрусова нематода *Tylenchulus semipenetrans* Cobb., яка зустрічається в оранжереях.

Родина хоплолайміди – Hoplolaimidae. Кутикула грубокільчаста. Фазміди добре помітні. Стиллет потужний. Самки з одним або двома амфідельфно розташованими яєчниками. Екто- і ендопаразити коренів рослин. Найбільш небезпечні види роду пратіленхус (*Pratylenchus* Filipjev), особливо для саджанців деревних культур, злаків, суниці, картоплі, тютюну та ін.

Родина справжні шішкоголкові нематоди – Tylenchidae. Головна капсула слабо або зовсім не склеротизована. Стиллет з базальними головками, слабкий і маленький або середньої величини. Протока спинної стравохідної залози частіше відкривається поблизу основи стилета. Стравохід тіленхоїдний. У самок зазвичай розвинений один яєчник. Бурса у самців рідко доходить до кінця хвоста. Паразитують у вегетативних і генеративних органах рослин. Найбільш небезпечні деякі види роду угриць (*Anguina* Scopoli): *Anguina tritici* Steinb. - пшенична угриця, і стеблових нематод (*Ditylenchus* Filipjev): *Ditylenchus destructor* Thorne - стеблова нематода картоплі, або картопляний дітиленх, *Ditylenchus dipsaci* Kuehn – цибулева стеблова нематода.

Родина афеленхоїди – *Aphelenchoididae*. Стилет з дрібними базальними головками, задня частина стравоходу плавно переходить в кишечник. У самців немає бурси і рулька; спікули широкі, вигнуті. Хвіст самок подовжено-конічний або ниткоподібний, з одним або декількома шипиками - *мурро*. Екто- і ендопаразити рослин. Найбільш патогенні види входять до складу роду афеленхоїдес (*Aphelenchoides* Fischer): *Aphelenchoides fragariae* Ritzema Bos – сунична нематода; *Aphelenchoides besseyi* Christie – рисовий афеленх; *Aphelenchoides ritzemabosi* Schwartz – хризантемна нематода.

Контрольні питання для самоперевірки

1. Як проводиться виділення червоподібних нематод з рослин?
2. Як проводиться виділення нематод з коренів сянців?
3. Як проводиться виділення цист з ґрунту?
4. Як проводиться виділення рухливих нематод з ґрунту?
5. Охарактеризуйте нематод ряду Рабдітіди (*Rhabditida*).
6. Охарактеризуйте нематод ряду Шишкоголкові нематоди (*Tylenchida*).
7. Охарактеризуйте нематод ряду Дорілайміди (*Dorylaimida*).
8. Охарактеризуйте нематод родини Різношкірі нематоди (*Heteroderidae*).
9. Охарактеризуйте нематод родини Галові нематоди (*Meloidogynidae*).
10. Охарактеризуйте нематод родини Хоплолайміди (*Hoplolaimidae*).
11. Охарактеризуйте нематод родини Справжні шішкоголкові нематоди (*Tylenchidae*).
12. Охарактеризуйте нематод родини Афеленхоїди (*Aphelenchoididae*).

Рекомендована література

1. Пилипенко Л.А. і ін. Молекулярно-генетична діагностика карантинних видів фітопаразитичних нематод. К.: Колобіг, 2012. 80 с.

2. Парамонов А. А. Основы фитогельминтологии. Москва : Изд. АН СССР, 1962, 1964, 1970. т. I, т. II, т. III.

3. Сігарьова Д. Д., Пилипенко Л. А., Борзих О. І., Ковтун А. М.. Сільськогосподарська нематологія : монографія. Київ : Agr. наука, 2017. 340 с.

4. Цилюрик А.В., Шевченко С.В. Лісова фітопатологія: підручник для студ. вищих навч. закладів. К.: КВЦ, 2008. 464 с.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 9

Тема: КВІТКОВІ РОСЛИНИ-ПАЗАРИТИ.

Мета роботи: визначити і описати типи ураження рослин, що викликаються квітковими рослинами-паразитами. Ознайомитися з типами паразитизму і морфологічними особливостями квіткових рослин-паразитів; обґрунтувати захисні заходи на основі знання про їх біологію та екологію.

Обладнання та матеріали: гербарій і фотографії квіткових рослин-паразитів, фрагменти деревних рослин, уражених омелою, насіння рослин-паразитів; лупи, скальпелі, настінні таблиці і визначники.

Завдання:

1. Ознайомитися з основними групами квіткових рослин-паразитів.

2. Знайти в Інтернет джерелах і замалювати в робочому зошиті по 1 рослині-паразиту з 4-х груп (кореневі напівпаразити, кореневі паразити, стеблові напівпаразити і стеблові паразити) із зазначенням їх латинських назв, уражуваних органів у рослин-господарів.

3. Знайти в Інтернет джерелах і замалювати в робочому зошиті апресорії, гаусторії і ризоїди омели в корі і деревині рослини-господаря.

4. Описати, які зміни відбуваються з рослинами при паразитуванні на них квіткових рослин-паразитів.

5. Скласти схему захисних заходів в залежності від біологічних особливостей представників кожної групи квіткових рослин-паразитів.

6. Дати відповіді на контрольні питання.

Теоретична частина.

Деякі види рослин частково або повністю втратили здатність до фотосинтезу і перейшли до паразитичного існування за рахунок інших рослин. У окремих видів рослин немає кореневої системи і асиміляційного апарату, їх виділяють в групу безхлорофільних паразитів (вовчок, петрів хрест, повитиця). Рослини, що зберегли листовий апарат і отримують від рослини-господаря тільки мінеральне живлення, названі

напівпаразитами (стрига, мар'яник, погремек, очанка, омела і ін.). Присмоктуючись до коріння або стебел рослин-господарів, такі квіткові паразити за допомогою гаусторій витягують з провідної системи поживні речовини і воду, що призводить до значного ослаблення рослин, а іноді й до загибелі.

Представники родини ремнеквіткові (*Loranthaceae*) є стебловими напівпаразитами. Це чагарники з шкірястим зеленими і лускоподібним листям, що мешкають на деревах і чагарниках. Найбільшою шкідливістю відрізняються види роду омела (*Viscum*) – омела біла, омела ялицева, а також ремнеквітник (*Loranthus europaeus* J.). Омела – вічнозелений чагарник майже кулястої форми. Стебло зелене, ложнодіхотомічно розгалужене, листя довгасте, щільне, квітки жовтувато-зелені, зібрані групами, плід – ягода. Насіння дозрівають взимку, поширюються птахами (дроздами, омелюхи). Через 3 ... 6 років після проростання насіння формуються стовбур і гілка з зеленим листям.

Омела паразитує на стволах і гілках багатьох лісових і плодових дерев, ремнеквітник паразитує на дубі і каштані. Ялівцева омела, або ялівцягідник (*Arceuthobium oxycedri* M.B.) – на різних видах ялівцю і великоплодному кипарисі.

До кореневих напівпаразитів відносяться представники родини норічників (*Scrophulariaceae*), серед них мар'яник, погремек, очанка, митник, тоція, стрига (види останньої є карантинними об'єктами). Вони часто зустрічаються на лісових галявинах, пригнічуючи травостій і збіднюючи видовий склад флори лісів і парків.

Представники родини вовчкові (російською заразиховые) (*Orobanchaceae*) – численна група облигатних корневих паразитів. Вовчки паразитують на багатьох видах однорічних і багаторічних рослин. На лісових породах (вільхи, ліщини, буку, черемха) паразитує петрів хрест (*Lathraea squamaria* L.). Під землею у нього утворюється багато м'ясистих стебел з характерними хрестовидними розгалуженнями, а на поверхні ґрунту утворюється невисоке жовтувате стебло з лусковидними рожевими листям і червоними квітками. Потовщеними основами стебел паразити прикріплюються до коріння рослини-господаря, забираючи з них органічні речовини.

Рослини з родини поветицевих (*Cuscutaceae*) – типові паразити. Більшість видів повитиць (рід *Cuscuta*) відноситься до однорічних рослин. Всі вони - об'єкти внутрішнього карантину, що паразитують на однорічних і багаторічних травах, чагарниках і деревах. Повитиця європейська (*C. europaea* L.) і повитиця одноствопчикова (*C. monogyna*) можуть вражати вербу, робінію псевдоакацію, тополю, вільху, клен, бузину, бузок, смородину, інші культурні рослини. *Повитиці* – це стеблові паразити з вегетативним тілом, які представляють собою ниткоподібне або шнуроподібне в'юнке стебло, гладке або бородавчасте, зазвичай жовтувато-червоного або зеленувато-жовтого кольору. Квітки дрібні, діаметром 2 ... 7 мм, з подвійною оцвітиною, білого, рожевого або зеленуватого кольору, зібрані в клубочковидні, колосоподібні або кулясті суцвіття. Плід – коробочка з одним, двома, частіше чотирма насінинами, які проростають на 5 ... 15-й день після посіву незалежно від наявності кореневих виділень живлячої рослини. Насіння може зберігатися в ґрунті декілька років, не проростаючи. Являються переносниками вірусних захворювань.

На лабораторних заняттях студенти розглядають фотографії та гербарний матеріал вищих квіткових рослин-паразитів, ділять їх на групи за типами паразитизму і місця прикріплення до рослин-господарів.

На прикладі мар'яника, або івана-да-мар'ї (*Melampyrum nemorosum* L.) з родини *Норичникові*, що паразитує на коренях багатьох лісових чагарників і дерев, а також трав'янистих рослин, ознайомтесь зі ступенем розвитку кореневої системи і присосків у корневих напівпаразитів.

Більшість видів вовчків - однорічні рослини з м'ясистим бурими або жовтими стеблами, покритими лускоподібним листям. Суцвіття колосоподібне, квітки пазушні, оцвітина п'ятичленикова, двогуба, з чотирма тичинками. Зав'язь верхня, одногніздна. Плід – коробочка, що містить 1 ... 2 тис. насіння і більш. Насіння вовчків проростають тільки під впливом корневих виділень рослин-господарів, причому поступово, у міру зростання кореневої системи живлячої рослини, тому на коренях можна побачити всі фази розвитку паразита. Від проростання до появи на поверхні ґрунту проходить 1,5 ... 2 міс.

У ґрунті насіння зберігаються 8 ... 12 років. Відмінними ознаками окремих видів вовчків служать морфологія стебла і квітки, а також паразитична спеціалізація.

У рослин, уражених квітковими паразитами, відбуваються різні порушення обміну речовин, що призводять в сукупності до хвороби. У багатьох випадках симптоми хвороб, викликаних різними рослинами-паразитами, можуть бути однаковими, і пов'язані в основному з пригніченням росту рослин-господарів.

Користуючись наведеним вище описом, визначте, до яких з них відносяться запропоновані в наборі зразки квіткових рослин-паразитів.

Контрольні питання для самоперевірки

1. Дайте характеристику квіткових рослин-паразитів як збудників хвороб рослин.

2. На які групи можна розділити квіткових рослин-паразитів за типом паразитизму і органотропною спеціалізацією?

3. Вкажіть особливості будови і розмноження квіткових рослин-паразитів.

4. У чому полягає принципова подібність і відмінності в паразитизмі між рослинами петрів хрест і омела?

5. Вкажіть систематичне положення рослин-паразитів з різними типами паразитизму і спеціалізації.

6. Назвіть способи поширення та зберігання квіткових рослин-паразитів (на конкретних прикладах).

7. Перерахуйте основні заходи захисту від квіткових рослин-паразитів.

Рекомендована література

1. Дудка И. А. и др. Методы экспериментальной микологии К.: Наукова думка, 1982. 552 с.
2. Журавлев И. И. Диагностика болезней леса. М.: Сельхозиздат, 1962. 194 с.
3. Цилюрик А. В., Шевченко С. В. Лісова фітопатологія: підручник для студ. вищих навч. закладів. К.: КВІЦ, 2008. 464 с.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №10

Тема: ДІАГНОСТИКА ШКІДЛИВИХ КОМАХ. ТЕХНІКА ПРИГОТУВАННЯ МАКРОСКОПІЧНИХ ТА МІКРОСКОПІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ КЛІЩІВ І КОМАХ.

Мета роботи: знайомство з основними методами діагностики та приготування тимчасових і постійних мікропрепаратів шкідливих комах та кліщів.

Обладнання та матеріали: свіжі або фіксовані комахи та кліщі; мікроскопи, предметні і покривні скельця, препарувальні голки.

Завдання:

1. Ознайомитися з методами виготовлення макроскопічних препаратів комах. Законспектувати основні моменти.

2. Ознайомитися з методами виготовлення мікроскопічних препаратів комах та кліщів. Законспектувати основні моменти.

3. Опанувати методику етикетування та зберігання постійних препаратів.

Теоретична частина.

Для отримання хороших постійних макроскопічних препаратів, в першу чергу клопів, жуків, перетинчастокрилих, двокрилих і метеликів, велике значення має вже сам спосіб умертвіння.

Найбільш доцільним виявилось застосування для цієї мети етилового ефіру оцтової кислоти, так як при такому способі умертвіння тіла комах знову стають м'якими. Оцтова кислота, що вивільняється з оцтового ефіру в результаті гідролізу, не тільки перешкоджає задубінню, але одночасно робить і мацеруючу дію. При використанні ціаністого калію або сірчаного ефіру членики тіла комах втрачають рухливість і після умертвіння стають жорсткими і ламкими, тому перед приготуванням препарату об'єкт необхідно розм'якшити на вологому фільтрувальному папері.

Морилками служать скляні пробірки з корковими пробками. На дно пробірки поміщають пом'якшений фільтрувальну папір, зволожений декількома краплями оцтового ефіру.

Конденсації вологи в пробірці запобігають за допомогою марлевих прокладок, і таким чином комахи не стикаються з рідиною, в іншому випадку вони легко злипаються і отримують ушкодження.

Постійні препарати необхідно готувати на наступний день після умертвіння комах, коли у них проходить заляккість, але не наступило висихання. Якщо ж швидке приготування препаратів неможливо, спійманих комах поміщають на час в 70% -вий спирт або зберігають в коробках, скриньках, пробірках, паперових пакетах, захищаючи від струшування, щоб не обломати кінцівки, вусики, крила, і від вогкості, щоб не почалося пліснявіння. Нижче коротко описані найбільш поширені методи отримання макроскопічних препаратів, в тому числі наклеювання, наколювання і закріплення комах.

Наклеювання. Для наклеювання шкідників використовують маленькі шматочки картону, форма і розмір яких визначаються видом і розміром комах. Для клопів і жуків зазвичай досить прямокутних шматочків розміром 5×14 мм або 4×11 мм. На одному кінці такої підкладки проведені подвійна і одинарна лінії. Першою відзначена площа наклеювання, по другій лінії проколюють закріплювальну шпильку. Препарати готують з тільки що вбитих комах або знову розм'якшених після залякання.

Комах спочатку укладають на спинку і двома пензликами розправляють ніжки і вусики, а потім надають нормальне положення тулуба. В середину картонки, приготовленої для наклеювання, наносять краплю водорозчинного риб'ячого клею (сіндектіону); клею повинно бути небагато, щоб він не виступав з боків приклеєної комахи.

Наклеювання проводять таким чином, щоб ніжки і вусики не виступали за краї картонки, інакше вона втратить захисну дію. Для дослідження таксономічно важливих ознак на черевній стороні комах деяких особин іноді наклеюють спинкою. Потім картонки проколюють шпилькою, вводячи її на 2/3.

Для препаратів дрібних перетинчастокрилих особливо зручні трикутні підкладки, які готують зі смужок паперу для поштових листівок шириною 6–7 мм, розрізаючи їх на трикутник. На вершину трикутника наносять вищезгаданий клей

і зволженим пензликом розміщують комаху в поздовжньому напрямку трикутника. Перетинчастокрилих наклеюють нижньою стороною грудей. Картонки з приклеєними комахами проколюють шпильками. Для двокрилих і метеликів спосіб наклеювання не вживається.

Якщо потрібно відмочити наклеєних комах, картонку кладуть на гарячу воду для обережного зволоження нижнього боку і розм'якшення водорозчинного клею.

Наколювання. Для наколювання комах використовують ентомологічні шпильки довжиною 36–38 мм з нержавіючої сталі. У продаж надходять шпильки №№ 000, 00, 0, 1, 2, 3, 4, 5 і 6. При виготовленні препаратів шкідливих комах в залежності від їх розміру застосовують шпильки № 0-3.

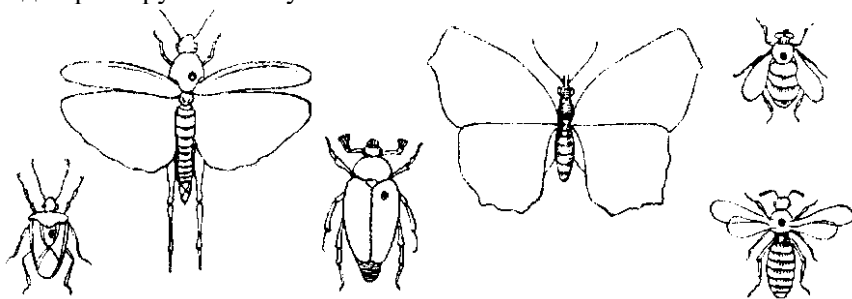


Рис. 10.1. Схема правильного наколювання комах різних рядів.

Перед наколюванням комах кладуть на спинку на аркуш білого паперу і двома пінцетами розправляють в потрібному порядку вусики і ніжки. Далі їх поміщають в нормальному положенні на торф'яну пластинку або підкладку з пінопласту і вводять шпильки: у перетинчастокрилих, двокрилих і метеликів – в середину грудей або дещо правіше, у клопів і жуків – в передню частину правого надкрила. Наколювання слід проводити так, щоб шпилька завжди йшла перпендикулярно довгій осі тіла і над спинкою комах виступала тільки її третина.

Потім вусики, ніжки і крила ще раз розправляють за допомогою тонких пензликів, препарувальних голок або тонких пінцетів. Щоб захистити частини тіла від обламування, у клопів

і жуків згинають ніжки і передню пару направляють вперед, дві інші пари - назад, а відносно довгі вусики укладають по обидві сторони голови. Ніжки перетинчастокрилих і мух необхідно витягнути вниз у напрямку до середини тулуба, крила залишають в природному положенні або розгортають симетрично довгій осі тіла і горизонтально під гострим кутом один до одного.

Розправлення. Бездоганні препарати метеликів отримують за допомогою розправлення, проводячи його відразу після вищеописаного наколювання (рис. 10.2). Для розправлення потрібні так звані правильні дошки, покривні і закріплювальні смужки, а також кріпильні шпильки.

Правильні дошки мають в довжину 36–40 см і робляться з м'якої деревини липи або тополі. В середині прорізаний жолобок, ширина якого у розсувних дощок регулюється. Дно жолобка викладено шаром торфу або пінопласту завтовшки 10 мм, в який можна легко і міцно вставляти наколотих метеликів. По обидва боки жолобка розташовані нахилені під певним кутом опорні площини для крил.

Закріплювальні смужки з полотняної креслярської кальки шириною 3, 5, 6 і 8 мм, прозорі покривні смужки з гладкого і міцного пергаментного паперу мають ширину 10, 15, 20, 30 і 40 мм. Кріпильними шпильками служать чорні сталеві шпильки довжиною 12–16 мм.

При розправленні встановлюють таку ширину жолобка дошки, щоб по обидва боки тулуба метелики залишався зазор в 1–3 мм. Потім в жолобок вставляють наколотого метелика, причому голка повинна знаходитись точно в середині жолобка, а крила повинні рівно лягти на опорні площини. Ніжки з допомогою препарувальної голки обережно укладають уздовж тулуба. Після цього з одного боку опорної площини поверх крил метеликів на відстані декількох міліметрів від краю жолобка вільно простягають закріплювальну смужку і з допомогою препарувальної голки розправляють крила. Коли вони виявляться в правильному положенні (поздовжня вісь тіла і задній край переднього крила утворюють прямий кут), закріплювальну смужку натягують і фіксують шпилькою. Ту ж процедуру проробляють з двома іншими крилами. При

розправленні препарувальною голкою можна торкатися тільки тулуба нижче товстої жилки, щоб не проколоти або не розірвати ніжні крила.

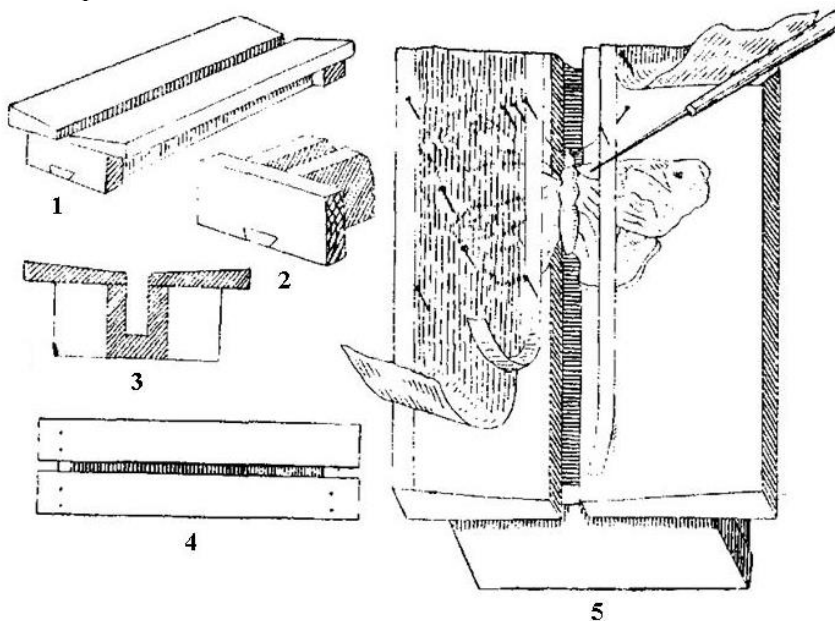


Рис. 10.2. Розправлення крил метелика:

1 – правильна дошка, 2, 3, 4 – деталі правильної дошки, 5 – розправлення крил.

Вусики слід укласти таким чином, щоб вони були орієнтовані паралельно передньому краю переднього крила і в одній площині з ним.

Частини крил, що залишилися вільними на площині яка закріплює дошки, накривають покривними смужками і фіксують шпильками, намагаючись уникнути утворення складок і розривів. Під черевце метелики підкладають маленький ватний тампон для того, щоб воно залишалось в одній площині з грудьми.

Дошку з метеликами зберігають в сухому і захищеному від світла місці. У маленьких метеликів процес висушування триває приблизно 8–10 днів, у середніх – 14–18 і у великих

метеликів – 24–28 днів. Як тільки черевце метелики стане щільним і твердим, його можна відкріпити. Однак, щоб попередити подальшу зміну положення крил, метеликів слід залишати на закріплювальній дошці якомога довше. Перед повторним використанням поверхню дощок вирівнюють за допомогою тонкого наждачного паперу.

Примітка. Щойноумертвлених метеликів рекомендується закріплювати в основному тільки після розм'якшення. Для цього їх протягом доби витримують в пластмасовій або скляній посудині з вологою ватою, зволуженим пінопластом або віскозною губкою. Щоб уникнути пліснявіння і гниття до води додають кілька крапель концентрованої оцтової кислоти. Якщо метелики вже підсохли, їх утримують в цій посудині два дні. Потім в груді метелики за допомогою тонкого шприца впорскують трохи нашатирного спирту (водного розчину аміаку) і через кілька годин приступають до розправлення.

Етикетування та зберігання макроскопічних препаратів. Постійні макроскопічні препарати комах також необхідно правильно надписувати. Зазвичай для цього використовують шматочки тонкого картону того ж розміру, що і клейкі етикетки (5×14 мм або 4×11 мм). Відповідно до міжнародної угоди вони мають наступні кольори: Європа – білий, Азія – жовтий, Африка – блакитний, Америка – зелений, Австралія – фіолетовий. Етикетка, прикріплена до шпильки кожної комахи, повинна містити наукове найменування і символ статі об'єкта і прізвище особи, яка проводила ідентифікацію. На другий етикетці вказують місце і дату вилову, вид рослини-господаря і прізвище того, хто спіймав комаху. Крім того, для метеликів слід повідомляти відомості про спосіб розведення або вилову. Для цього введено такі короткі позначення: с.п. – світлова пастка; п.п. – пастка з принадою; е.о. (ex ovo) – метелик виведений з яйця; е.І. (ex larva) – метелик виведений з гусениці; е.р. (ex pupa) – метелик виведений з лялечки. Інші дані щодо місця знахідки, погодних умов, чисельності комах і т. д. можна занести в картотеку або журнал під порядковим номером препарату.

Всі етикетовані препарати систематизують і зберігають в умовах, що захищають від пилу, вологості і шкідників. Для цього найкраще використовувати так звані ентомологічні

коробки. Це дерев'яні або пластмасові коробки, які герметично закриваються, викладені торфом або пінопластом і щільно закриваються заклоною кришкою. Щоб не допустити проникнення небезпечних личинок музейного жука, сеноїдів, кліщів та інших шкідників, ентомологічні коробки необхідно регулярно перевіряти і дезінфікувати (парадихлорбензолом, чотирьоххлористим вуглецем, лінданом).

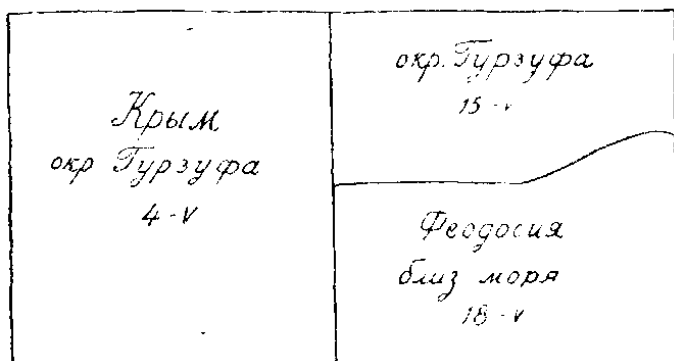
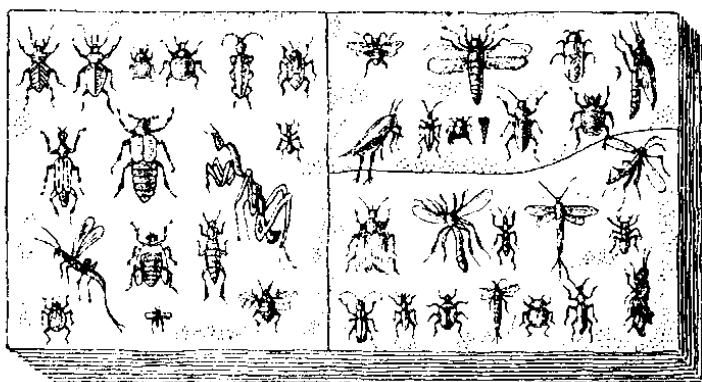


Рис. 10.3. Правильне розкладання комах на ваті і етикетка.

Перш ніж приступити до опису добре відомих і легко здійсненних методів приготування мікроскопічних препаратів дрібних членистоногих (кліщів, попелиць, щитівок, трипсів, галиць і ін.), необхідно сказати про найбільш важливі допоміжні

засоби (предметні і покривні скельця) і про значення фіксуючого середовища.

Для отримання мікроскопічних препаратів необхідні предметні і покривні скла. Між ними знаходиться середовище, в яке занурюють препаруемого шкідника.

Предметні скельця являють собою прямокутні пластинки довжиною 75 і шириною 25 мм. Їх товщина повинна становити 1 мм. Для виготовлення бездоганних препаратів придатні лише скла без викривлень, хвилястостей і бульбашок.

Розмір *покривних скелець* може бути різним. Поряд з найбільш поширеним форматом 18×18 мм застосовують покривні скла розміром 15×15 і 10×10 мм. Особливу увагу слід приділяти товщині покривних скелець, так як на неї оптично скориговані об'єктиви мікроскопів (всі об'єктиви Цейса скориговані на товщину покривного скла 0,17 мм). При застосуванні ахроматичних сухих об'єтивів і слабких апохроматів (збільшення 10× і 20×) можливі незначні відступи від запропонованої товщини (0,17 мм), але у ахроматичних імерсійних об'єтивів, як і у всіх апохроматів з великим збільшенням, це призвело б до погіршення якості перегляду. Те ж відноситься до покривних скелець з подряпинами, викривленнями і повітряними бульбашками. Тому якість покривних скелець доцільно піддавати перевірці, відбираючи їх по товщині із застосуванням спеціального вимірювача або мікрометра і відбраковувати дефектні скельця.

Перед приготуванням препаратів як предметні, так і покривні скельця необхідно ретельно очистити за допомогою чистої м'якої лляної ганчірочки. При більш сильному забрудненні очищення проводять спиртом, аміаком або ксилолом. Скельця, помутнілі від промислових домішок, можна покласти на кілька днів в суміш біхромату калію і сірчаної кислоти, а потім обполоснути дистильованою водою і спиртом.

Фіксуючі середовища повинні зменшувати показник заломлення повітря (1,0) і об'єкта (для хітинової кутикули 1,5-1,6), щоб пучки променів залишалися в полі зору мікроскопа і могли бути сприйняті спостерігачем. Крім того, середовища повинні володіти консервуючими властивостями, захищаючи об'єкт від гнилі і цвілі, а також охороняти його від пилу,

висихання і зморщування. Добрими середовищами для кліщів і комах є водорозчинні камедисті і водонерозчинні смолисті речовини. Їх переваги і недоліки докладно розглянуті під час обговорення окремих методів.

Препарати кліщів для визначення. При приготуванні препаратів кліщів (павутинних, м'якотілих, галових) в першу чергу слід провести освітлення об'єкта, т. б. зробити його прозорим, щоб під мікроскопом в світлі можна було чітко встановити важливі для систематики ознаки. В якості освітлюючого засобу зазвичай застосовують 10% -вий калійний луг, 50–100% -ву молочну кислоту або суміш гліцерину і крижаної оцтової кислоти (1:4).

Живих кліщів поміщають на предметне скло в краплю одного з освітлюючих засобів і накривають покривним склом. Повторне обережне нагрівання над полум'ям пальника або тривале нагрівання на тепловій панелі (60 °С) прискорює освітлення. При використанні в якості освітлюючого середовища молочної кислоти або суміші гліцерину з крижаною оцтовою кислотою одночасно з висвітленням відбувається розпрямлення кліщів і їх нерідко підібганих ніжок - перевага, яка істотно полегшує визначення. Якщо для освітлення використовують калійний луг, то розпрямлення кліщів можна викликати шляхом додавання води після нагрівання.

Постійні препарати кліщів. Для постійних мікропрепаратів кліщів придатні різні, в першу чергу водорозчинні фіксуючі середовища, що містять камедь. Живих кліщів (м'якотілих, галових) поміщають в краплю середовища на предметному склі. Якщо вони непрозорі (павутинний кліщ), то попередньо їх слід освітлити. Освітлюючими засобами служать 19–30% -вий розчин калійного лугу або 50–100% -ва молочна кислота. Для їх видалення об'єкт споліскують в декількох змінах дистильованої води і потім занурюють безпосередньо в фіксуюче середовище. Опис деяких середовищ дано нижче.

Для приготування суміші *Берлезе* 30 г гуміарабіку розчиняють в 30 мл дистильованої води. Приблизно через три дні додають 20 мл гліцерину і 200 г кристалів хлоралгідрату. Ще через три дні в'язкотекучу рідину фільтрують, що також займає

кілька днів. Готову до вживання суміш Берлезе зберігають в пляшках з гвинтовими ковпачками.

Розчин Фора за складом аналогічний суміші Берлезе. Він складається з 30 г гуміарабіку, 50 мл дистильованої води, 20 мл гліцерину і 50 г хлоралгідрату. Готують розчин так само, як суміш Берлезе.

Реагент Хойера має наступний склад: 50 г гуміарабіку, 50 мл дистильованої води, 30 мл гліцерину і 125 г хлоралгідрату. Для приготування цього середовища дійсні вказівки з отримання суміші Берлезе.

Полівініллактофенол готують шляхом додавання полівінілового спирту до нагрітої дистильованої води при постійному помішуванні до утворення сиропу розчину. Через кілька годин розчин стає прозорим (при необхідності його знову підігрівують на водяній бані). Після охолодження до 5 частин полівінілового розчину додають по 2 частини фенолу і молочної кислоти. Це середовище також зберігають в склянках з гвинтовими ковпачками.

Помістивши кліщів на предметному склі в одне з описаних середовищ, обережно накладають покривне скло. Отриманий препарат рекомендується прогріти протягом 2 год. на плитці або в термостаті приблизно до 60 °С. При цьому відбувається подальше освітлення кліщів і розпрямлення підібганих ніжок.

Примітка. У всіх водорозчинних середовищах міститься близько 50% летючого розчинника. Тому навіть при ретельному зберіганні постійні препарати з часом можуть сильно висохнути. Для уповільнення цього процесу через півроку після приготування препаратів покривні скла слід обвести спеціальним лаком.

Постійні препарати комах. Якщо приготування препаратів кліщів - за винятком їх освітлення - здебільшого відбувається без дорогих попередніх процедур, то для комах, які, як правило, мають більш хітинізовані покриви, найчастіше необхідна мацерація, а іноді і знежирення.

Мацерація служить для розм'якшення м'яких тканин, в першу чергу м'язів, і для омилення жирів. В якості мацеруючої речовин придатні розчини лугів. Слабкі луги (5-10%) мацерують сильніше, проте набагато інтенсивніше впливають на хітин, ніж

концентровані луги (20-30% -ві). Тому останні слід рекомендувати для нижніх комах, наприклад попелиць. Щоб прискорити мацерацію, можна також нагріти луг до 60° С або ж довести його до точки кипіння (повільно!). Однак при цьому слід враховувати часте вицвітання тварин, що у темних трипсів нерідко навіть бажано.

Попелиць перед мацерацією рекомендується *знежирити* за допомогою суміші 96% -ого спирту і чотирихлористого вуглецю (1:1). Комах залишають в цій суміші на 2–4 дні, змінюючи її 2–3 рази, потім споліскують 80% -вим спиртом і мацерують в калійному лузі.

Мацерованих комах потрібно перенести в дистильовану воду, щоб видалити луг і омилений вміст тіла. Для прискорення процесу дифузії комах можна надрізати з боків або проколоти тонкими голками. Подальша обробка залежить від вибору фіксуєчого середовища.

Якщо для приготування постійних препаратів вибирають водорозчинні камедисті речовини, що входять до складу суміші Берлезе, розчину Фора або реагенту Хойера, то комах переносять з дистильованої води на 5-10 хв в розведену молочну кислоту або розведений гліцерин, а потім занурюють на предметному склі в фіксуєче середовище. Приготування препарату закінчується обережним накладанням покривного скла.

Якщо ж в якості фіксуєчого середовища використовують водонерозчинні смолисті речовини, наприклад канадський або нейтральний бальзам, то в цьому випадку перш за все необхідно провести *зневоднення об'єкта*. З цією метою комах послідовно поміщають в 50%, 70%, 80% -вий і абсолютний спирт кожен раз на 1-2 години, потім швидко опускають в проміжне середовище (ксилол або гвоздикове масло) і нарешті занурюють в краплю канадського або нейтрального бальзаму на предметному склі і накладають покривне скло. Слід зазначити, що комах, що зберігалися в 70% -ому спирті, перед зануренням в бальзам обробляють тільки 80% -вим і абсолютним спиртом і ксилолом або гвоздиковим маслом.

Примітка. Приготування мікроскопічних препаратів із застосуванням водорозчинних камедистих середовищ (суміш

Берлезе, розчин Фора, реагент Хойера) має більшу перевагу: комах можна перевести в фіксує середовище живими, з розведеної молочної кислоти, гліцерину або з 80% -ого спирту без попередньої дорогої обробки. Недоліком же методу є зморщування об'єктів, що поступово розвивається внаслідок випаровування летючих компонентів середовища. В результаті якість препаратів погіршується.

Відносно високі витрати на мацерацію, знежирення, зневоднення при застосуванні водонерозчинних смолистих середовищ (канадський або нейтральний бальзам) врівноважуються майже необмеженою стійкістю постійних препаратів. Тому в тих випадках, коли збільшення витрат на приготування препаратів можливо, слід віддавати перевагу заливці комах канадським або нейтральним бальзамом.

Етикетування та зберігання постійних препаратів. Постійні препарати лише тоді виконують свою роль, коли вони правильно оформлені. Для цього зазвичай використовують паперові етикетки, наклеюючи їх з однієї або з обох сторін на предметне скло. Наклеювати етикетки слід ретельно, так як без напису об'єкт втрачає наукове значення.

На етикетках повинні бути наведені такі дані: точне видове найменування об'єкта, символ статі, прізвище того, хто визначив комаху, вид і дата визначення. Рекомендується також приводити додаткові відомості: найменування рослини-господаря, місце вилову, фіксує середовище і дату приготування препарату.

Під час висушування, що триває кілька тижнів, постійні препарати обов'язково повинні зберігатися в горизонтальному положенні і в пилонепроникному місці. Для цього придатні спеціальні папки на 20 препаратів або коробки на 50 і 100 препаратів. У коробках постійні препарати залишають на тривале зберігання.

Контрольні питання для самоперевірки

1. Охарактеризуйте порядок виготовлення колекційного матеріалу шкідливих комах для діагностування.
2. Назвіть вимоги до правильного етикетування колекційного матеріалу.
3. Назвіть порядок виготовлення постійних мікропрепаратів кліщів.
4. Назвіть порядок виготовлення постійних мікропрепаратів комах.

Рекомендована література

1. Ильинский А. И. и др. Надзор, учет и прогноз хвое- и листогрызущих вредителей леса. М.: Лесн. пром., 1965. 526 с.
2. Падій М. М. Лісова ентомологія. К.: Вид. УСХА, 1993. 350 с.
3. Фрайштат Д. М. Реактивы и препараты для микроскопии. М.: Химия, 1980. 480с.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Дудка И.А. и др. Методы экспериментальной микологии. К.: Наукова думка, 1982. 552 с.
2. Журавлев И.И. Диагностика болезней леса. М.: Сельхозиздат, 1962. 194 с.
3. Журавлев И.И. Фитопатология. М.: Изд-во сельскохозяйственной литературы, 1963. 280 с.
4. Ильинский А.И. и др. Надзор, учет и прогноз хвое- и листогрызущих вредителей леса. М.: Лесн. пром., 1965. 526 с.
5. Методы экспериментальной микологии. Справочник. / Под ред. Билай В.И. К.: Наукова думка. 1982. 551с.
6. Падій М.М. Лісова ентомологія. К.: Вид. УСХА, 1993. 350 с.
7. Пилипенко Л.А. і ін. Молекулярно-генетична діагностика карантинних видів фітопаразитичних нематод. К.: Колоб'іг, 2012. 80 с.
8. Парамонов А. А. Основы фитогельминтологии. Москва : Изд. АН СССР, 1962, 1964, 1970. т. I, т. II, т. III.
9. Ролл-Хансен Ф., Ролл-Хансен Х. Болезни лесных деревьев. / Под ред. В. А. Соловьева. СПб: ЛТА, 1998. – 120 с.
10. Семенкова И.Г., Соколова Э.С. Фитопатология: учеб. для студ. Вузов. М.: Академия. 2003. 480 с.
11. Сігарьова Д.Д., Пилипенко Л.А., Борзих О.І., Ковтун А. М.. Сільськогосподарська нематологія: монографія. Київ : Агр. наука, 2017. 340 с.
12. Цилюрик А.В., Шевченко С.В. Лісова фітопатологія [Текст] : підручник для студ. з напряму підготовки "Лісове та садово-паркове господарство" вищих навч. закладів. К.: КВІЦ, 2008. 464 с.
13. Kuzmichev E. P., Sokolova E. S., Kulikova E. G. Common Fungal Diseases of Russian Forests. USDA: Forest Service, 2001. 137 p.

Додаткова:

1. Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г. Микроорганизмы - возбудители болезней растений. К.: Наукова думка, 1988. 552с.

2. Бондарцев А.С. Трутовые грибы Европейской части СССР и Кавказа. Л.: Изд-во АН СССР 1953. 1106с.
3. Вакин А.Т., Полубояринов О.И., Соловьев В.А. Пороки древесины. -2-е изд., перераб. и доп. М.: Лесная промышленность, 1980. 112с.
4. Воронцов А.И. Биологическая защита леса. М.: Лесная промышленность, 1984 264с.
5. Гулий В.В., Голосова М.А. Вирусы в защите леса от вредных насекомых М.: Лесная промышленность, 1975. 167 с.
6. Ключник П.И. Определитель дереворазрушающих грибов. Л.: Гослесбумиздат, 1957. 140с.
7. Фрайштат Д.М. Реактивы и препараты для микроскопии. М.: Химия, 1980. 480с.
8. Чумакова А.Е., Минкевич И.И., Власов Ю.И., Гаврилова Е.А. Основные методы фитопатологических исследований. М.: Колос, 1974. 190с.